

T H E S E S

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE

DE DIJON

pour obtenir

Le Grade de Docteur - Ingénieur

par

J. TSOULI

1ère Thèse

Possibilité d'utilisation des fromages maigres séchés
comme source de protéines dans les pays en voie de
développement.

2ème Thèse

Relations entre les constituants chimiques et la texture des fromages.

soutenues le devant la Commission d'Examen :

M. BARON : Président
Professeur à la Faculté des Sciences de DIJON

M. KEILLING : Examineur
Professeur à l'Institut National Agronomique à PARIS

Mlle SIMATOS : Examineur
Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de DIJON.

1969

○○○○

T H E S E S

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE

DE DIJON

pour obtenir

Le Grade de Docteur - Ingénieur

par

J. TSOULI

1ère Thèse

Possibilité d'utilisation des fromages maigres séchés
comme source de protéines dans les pays en voie de
développement.

--

2ème Thèse

Relations entre les constituants chimiques et la
texture des fromages.

soutenues le

devant la Commission d'Examen :

M. BARON : Président
Professeur à la Faculté des Sciences de DIJON

M. KEILLING : Examineur
Professeur à l'Institut National Agronomique à PARIS

Mlle SIMATOS : Examineur
Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de DIJON.

S O M M A I R E

CHAPITRE I - INTRODUCTION GENERALE

1. Situation alimentaire actuelle des populations à travers le monde.
 11. La sous-alimentation
 12. La malnutrition
2. Avantages et inconvénients des différentes solutions.

CHAPITRE II - TECHNOLOGIE DU FROMAGE MAIGRE SECHE

I. Introduction

II. Historique du fromage maigre

III. Technologie du fromage maigre séché

1. Processus de fabrication

11. Préparation du lait
12. Mise en présure du lait
13. Moulage du caillé
14. Salage

2. Quelques analyses des produits utilisés au cours de la fabrication

21. Fraîcheur du lait. Acidité
22. Détermination de la matière grasse dans le lait
23. Extrait sec du lait et du sérum
24. Evolution de l'acidité du sérum au cours de l'égouttage
25. Poids du fromage obtenu
26. Extrait sec du fromage avant le séchage
27. Rendement et calcul du coefficient G

3. Mode de séchage

31. Les fromages maigres sont fabriqués dans les pays producteurs de lait
32. Les fromages maigres sont fabriqués dans les pays en voie de développement

4. Evolution de l'extrait sec au cours du séchage
5. Emballage des fromages
6. Séchage des fromages

IV. Le comportement des pays en voie de développement vis à vis du fromage

CHAPITRE III - VALEUR ALIMENTAIRE DU FROMAGE MAIGRE SECHE

I. Introduction

II. Méthode d'évaluation de la valeur nutritive du fromage maigre séché comparativement à celle du lait écrémé en poudre et celle d'une farine de poisson

A. Choix de la méthode

1. Méthode des poids
2. Méthode des bilans
 21. Coefficient d'utilisation digestive
 22. Valeur biologique
3. Méthode d'analyse des tissus et humeurs

B. Modalités expérimentales pour la détermination de la valeur nutritive du fromage maigre séché

1. Introduction
2. Techniques expérimentales
 21. Matériel employé
 22. Conduite des études métaboliques
 23. Régimes alimentaires
 24. Caractéristiques des produits employés
 25. Méthode de détermination des Ingesta et Excreta
3. Résultats obtenus
 31. C.U.D.
 32. V.B.
4. Discussion des résultats
 41. C.U.D.
 42. V.B.
5. Conclusion

III. Dosage par voie microbiologique des acides aminés dans le fromage maigre séché. Etude comparative avec du lait écrémé et une caséine industrielle.

A. Généralités sur les dosages des acides aminés par voie microbiologique

1. Principes

2. Moyens mis en oeuvre

21. Les souches

22. Milieux de base

23. Extraction des acides aminés

3. Modalités de dosage

31. Courbe-étalon et extraits

32. Stérilisation

33. Incubation

4. Mesure de la croissance

41. Méthode néphélométrique

42. Méthode acidimétrique

5. Calculs

6. Spécificité des dosages microbiologiques

B. Dosage de quatre acides aminés indispensables

1. Préparation des échantillons

2. Résultat des dosages :

21. Lysine

22. Cystine

23. Méthionine

24. Tryptophane

IV. Dosage microbiologique de la Riboflavine et de l'acide nicotinique dans le fromage

1. Préparation des échantillons

2. Modalités expérimentales des dosages

21. Dosage de la riboflavine (B2)

22. Dosage de la niacine (PP)

V. Conclusions sur les dosages microbiologiques

VI. Influence de la concentration de présure sur la libération de l'azote du caillé vers le lactosérum.

1. Introduction
2. Protocole expérimental
3. Fractionnement et dosage des protéines du lactosérum

VII. Dosage du calcium dans les cendres du fromage

1. Cendres
2. Dosage du calcium

VIII. Conclusions générales sur la valeur alimentaire du fromage maigre séché

CHAPITRE IV - PROBLEMES ECONOMIQUES ET PERSPECTIVES D'AVENIR
POUR LE FROMAGE MAIGRE SECHE

I. Introduction

II. Quelques problèmes économiques

III. Conclusion

CONCLUSIONS GENERALES

Annexe .

AVANT - PROPOS

La faim et plus particulièrement l'insuffisance tant quantitative que qualitative des protéines dans la ration alimentaire à travers le monde posent de sérieux problèmes à l'humanité tout entière.

Le déséquilibre entre régions pauvres et régions riches ne cesse de s'accroître : d'un côté la malnutrition et la sous-alimentation font des ravages de toutes sortes ; de l'autre côté, nous assistons à une pléthore alimentaire se traduisant souvent par des gaspillages "volontaires" dans le but de maintenir l'équilibre général des prix à l'intérieur des pays concernés.

C'est précisément à travers cette surproduction alimentaire que nous avons suggéré la solution consistant à transformer le lait écrémé - sous produit des beurrieres - en fromage maigre que nous séchons pour lui conférer une stabilité nécessaire à une bonne conservation sous divers climats.

Cependant, si un tel travail a pu voir le jour, c'est bien grâce à l'aide et la collaboration de plusieurs personnes que nous voudrions remercier bien sincèrement.

Il nous est agréable de remercier ici Monsieur le Professeur BAPON et Monsieur le Professeur KEILLING qui n'ont cessé de suivre nos travaux et ont su les orienter de façon décisive.

Nous tenons également à remercier Mademoiselle SIMATOS qui a bien voulu faire partie de notre jury et nous a proposé un intéressant sujet pour la 2ème thèse.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Monsieur BLAIS, Directeur de l'Institut National Agronomique, qui s'informait régulièrement de l'évolution de notre travail et nous aidait chaque fois que cela était nécessaire, montrant ainsi l'intérêt tout particulier qu'il attache à un tel problème humain.

Nos remerciements vont également à Monsieur CAMUS, Directeur de recherches à l'I.N.R.A. qui nous a fait profiter, très volontiers, de ses connaissances chaque fois que nous nous adressions à lui.

Nous remercions également Monsieur le Professeur ADRIAN du C.N.R.S. et Monsieur CAUSERET de l'I.N.R.A. qui ont bien voulu nous recevoir dans leur laboratoire respectif et nous ont mis au courant des techniques biologiques que nous avons adoptées dans le présent travail.

Nous sommes reconnaissant également à Monsieur DAVID qui nous a offert l'hospitalité dans la Laiterie coopérative qu'il dirige à Grièges (Ain) chaque fois que nous avons besoin de procéder à des essais de fabrication des fromages.

Nous remercions aussi tout le personnel du Laboratoire de Technologie Agricole et plus particulièrement Madame BURDIN et Madame JANNOT pour l'aide efficace qu'ils nous ont apportée dans l'élaboration de notre travail.

Enfin nous n'aurons garde d'oublier le personnel de l'I.B.A.N.A. pour l'aide qu'il nous a accordée lors des expériences biologiques que nous avons entreprises à Dijon.

oOo

CHAPITRE I

INTRODUCTION GENERALE

1. Situation alimentaire actuelle des populations à travers le monde

La situation alimentaire mondiale pose de sérieux problèmes à l'humanité entière; toutes les statistiques affirment qu'il existe deux hommes sur trois à travers le globe qui ne mangent pas à leur faim et sont, par conséquent, la proie de maladies et infections diverses; certains vont jusqu'à voir en cela le signe d'une extinction éventuelle de l'humanité. Et pour paradoxal que cela puisse paraître, le monde est partagé en deux "classes", l'une "possédante" et l'autre "dépossédée"; la première augmente sans cesse son niveau de vie grâce à la productivité toujours croissante de son potentiel industriel et économique, la deuxième piétine dans un système de production - essentiellement agricole - défectueux voire archaïque dans le monde moderne où nous vivons. L'ironie du sort fait que là où le taux de production stagne ou évolue lentement, le taux de natalité, quant à lui, progresse prodigieusement, ce qui fait que les efforts déployés passent inaperçus devant cette "explosion démographique" selon le terme de René DUMONT. Cette situation que tout le monde qualifie d'alarmante inquiète les experts chargés de mettre sur pied un programme mondial d'alimentation.

Certains, comme R. DUMONT et coll. (45) brossent un tableau sombre de la situation et laissent planer la menace d'une catastrophe à l'horizon 1975-80 qui pèsera d'abord sur le tiers monde puis fera tache d'huile à travers l'univers tout entier. Selon R. DUMONT, les pays du tiers monde où le taux démographique dépasse 3 % sont en "pleine folie". D'après cet auteur, la première mesure à prendre est de freiner cette course qu'est en train de gagner la démographie dans ces pays.

Dans une analyse approfondie du problème de la faim, M. CEPEDE (46), quant à lui, fait remarquer, sans pour autant minimiser la situation dramatique où nous nous trouvons, que c'est précisément là où le taux de croissance démographique est plus fort, qu'on a enregistré une production agricole en augmentation pendant les dix dernières années. C'est là un phénomène dont il faudrait analyser les causes. Pour lui, seule la solution de la mise en valeur intensive des terres agricoles est valable à long terme; pour répondre aux pessimistes, il cite la phrase de Paul CLAUDEL : "Le pire n'est pas toujours sûr", et conclut en s'interrogeant :

"Mais où est le pire ? La menace de la famine ou, grâce à un génocide imposé aux peuples en voie de développement, la perpétuation d'un monde qui ne trouve son équilibre économique que parce que deux hommes sur trois y souffrent de la faim ?"

Ce problème du déséquilibre alimentaire dans les pays du tiers monde présente deux aspects :

11. La sous-alimentation : Il s'agit là d'une insuffisance quantitative du régime alimentaire en rapport donc avec la ration calorique.

Le tableau I (47) nous donne les niveaux des disponibilités et des besoins en calories, par région, 1957-59 (par habitant et par jour au niveau du détail).

Région	Disponibilités en Calories *	Besoins en Calories *	Disponibilités caloriques : en pourcen- tage des besoins ca- loriques**
Extrême-Orient (y compris la Chine continentale)	2.050	2.300	90
Proche-Orient	2.450	2.400	103
Afrique	2.350	2.400	98
Amérique latine	2.500	2.400	104
Europe (y compris U.R.S.S.)	3.050	2.600	117
Amérique du Nord	3.100	2.600	120
Océanie	3.250	2.600	125
Pays à niveau calorique bas	2.150	2.300	93
Pays à niveau calorique élevé	3.000	2.600	116
Monde	2.400	2.400	100

* arrondi à la cinquantaine

** calculé d'après des chiffres non arrondis.

12. La malnutrition : Il s'agit d'une insuffisance de la qualité nutritionnelle du régime alimentaire; on touche ici la composition, l'équilibre biologique des aliments qui composent la ration alimentaire.

A vrai dire, la malnutrition et la sous-alimentation coexistent chez la plupart des sujets des pays du Tiers-Monde et tout le noeud du problème se situe au niveau des protéines dont le déficit chez les populations des pays en voie de développement menace directement la santé et la productivité des générations futures : sans parler de celle d'aujourd'hui.

Cette insuffisance protéique affecte toutes les couches à bas niveau social - elles sont les plus nombreuses - et particulièrement les enfants et les femmes allaitantes. A propos de ces dernières, HOLEMANS et coll. (48) ont mis en bilan, pendant dix jours, cinq femmes allaitant un enfant de 1 à 2 ans. Ces sujets recevaient le régime alimentaire coutumier à volonté, un peu enrichi mais néanmoins pauvre en azote et en calcium, contenant 135 mg N/kg/24h., 11 mg Ca/kg/24h., et 15 mg P/kg/24h. Ils sont arrivés à cette conclusion à savoir que la lactation constitue un risque permanent de bilan négatif en N, Ca et P chez la femme indigène du Kwango.

Chez les enfants, ces régimes déficients donnent lieu, d'après FRONTALIG (49), à un syndrome qui a reçu plusieurs dénominations selon les pays (Kwashvoikor en Afrique, dystrophie en Europe). Cette maladie affecte particulièrement la peau et les cheveux; souvent il y a formation d'oedème au niveau des membres inférieurs et de la cavité abdominale. Ces manifestations, toujours d'après FRONTALIG, sont étroitement liées à la carence en acides aminés dans les protéines végétales, surtout lysine, méthionine, cystine et tryptophane et aussi à la carence en certains facteurs vitaminiques surtout du groupe B qui ont une influence notable sur l'intégrité cutanée.

Cette situation est due principalement au fait que ces populations ont une alimentation essentiellement à base de céréales, de féculents et de quelques légumineuses; quant à la consommation de produits d'origine animale, elle est très infime et n'affecte, en général, que les gens à haut niveau social comme nous le montre le tableau II (50).

Cette situation s'explique par les structures et les tendances mêmes de la production et de la consommation alimentaire dans ces pays comme nous allons le voir sommairement.

Les Protéines d'origine végétale :

Elles proviennent pour une grande part de la production locale qui, d'une façon globale, a progressé depuis la dernière guerre; elle reste cependant tributaire d'une agriculture traditionnelle aux structures mal adaptées : les moyens de production n'ont pas évolué et les rendements restent faibles. Certes, les Européens ont instauré, dans un certain

TABLEAU II - QUANTITE DE PROTEINES FOURNIES PAR LES PRINCIPAUX GROUPES DE DENREES ALIMENTAIRES, PAR REGION ET PAR HABITANT. (au niveau du détail).

		Protéines d'origine végétale				Protéines animales			
Période		céréales	racines féculen- tes.	légum- neuses oléag. & noix	légumes et fruits	viande & vo- lailles	oeufs	poisson	lait et produits dérivés
		Grammes par habitant et par jour							
Europe occi- dentale	Avant-Guerre	35,6	4,7	5,6	3,2	16,3	2,5	2,5	14,7
	Après-Guerre	35,1	5,3	5,1	3,5	12,5	2,2	2,6	15,7
	Période récente	30,5	4,4	5,0	4,1	16,2	3,1	2,4	17,3
Europe orien- tale et URSS	Avant-Guerre	48,7	7,1	5,8	2,4	8,1	1,1	1,1	9,6
	Après-Guerre	42,5	8,2	5,0	2,3	9,5	1,2	1,3	12,0
	Période récente	48,3	8,2	2,0	2,5	12,9	2,2	1,9	16,1
Amérique du Nord	Avant-Guerre	22,3	3,1	4,7	4,9	24,4	4,6	2,6	19,4
	Après-Guerre	17,5	2,5	5,3	5,0	28,2	6,3	2,7	23,5
	Période récente	15,7	2,3	4,7	4,6	31,9	6,0	2,5	25,3
Océanie	Avant-Guerre	29,2	2,5	1,0	3,3	41,6	4,0	2,9	17,9
	Après-Guerre	24,5	2,1	2,4	3,2	37,8	4,0	2,9	20,9
	Période récente	24,3	2,4	2,1	3,1	36,8	3,5	2,2	19,5
Amérique latine	Avant-Guerre	22,7	2,5	8,9	2,0	17,9	1,2	0,9	8,1
	Après-Guerre	25,7	3,0	8,8	2,3	13,2	0,9	1,5	6,1
	Période récente	26,5	2,7	10,7	2,8	13,8	1,2	1,5	7,4
Extrême- Orient (1)	Avant-Guerre	35,8	0,9	14,9	2,0	2,8	0,5	1,5	2,6
	Après-Guerre	32,0	1,0	13,1	1,6	2,3	0,2	1,5	2,1
	Période récente	32,6	1,8	12,0	1,7	3,0	0,4	2,2	2,2
Proche- Orient	Avant-Guerre	51,0	0,2	7,1	2,2	3,5	0,4	0,4	7,4
	Après-Guerre	48,4	0,4	5,5	2,8	3,6	0,4	0,8	7,2
	Période récente	48,5	0,7	9,5	3,6	4,6	0,5	1,1	7,4
Afrique	Période récente	32,2	7,1	9,0	1,7	5,8	0,4	1,3	3,5
Pays à forte ration éner- gétique (2)	Avant-Guerre	37,4	5,2	5,0	3,1	15,9	2,8	1,8	13,8
	Après-Guerre	34,0	5,8	4,9	3,3	16,1	2,9	2,0	16,0
	Période récente	33,4	5,2	3,8	3,6	19,8	3,3	2,4	18,5
Pays à faible ration éner- gétique (3)	Avant-Guerre	35,7	1,6	13,4	1,2	4,2	0,4	1,4	3,7
	Après-Guerre	32,7	1,8	12,0	1,5	3,2	0,4	1,4	2,9
	Période récente	33,2	2,3	11,6	1,8	3,8	0,4	1,9	2,9
Monde (1)	Avant-Guerre	35,3	2,6	10,9	2,2	8,6	0,9	1,3	7,2
	Après-Guerre	31,8	2,8	9,4	2,0	7,8	1,3	1,8	7,3
	Période récente	33,4	3,2	9,0	2,4	8,8	1,2	2,3	7,7

1). Y compris la Chine Continentale.

2). Europe, Amérique du Nord, Océanie, Pays du Rio de la Plata.

3). Amérique latine (non compris les pays du Rio de la Plata), Extrême Orient, Proche Orient, Afrique.

nombre de régions à travers le Tiers Monde, un secteur moderne de l'agriculture mais, dans la plupart des cas, les objectifs de ce secteur étaient surtout orientés vers la satisfaction des besoins de l'industrie des pays développés. Ainsi il a bénéficié d'une aide aussi bien dans le domaine financier que dans le domaine de la recherche scientifique et cela aux dépens des cultures vivrières comme le font justement remarquer le Docteur H. DUPIN et coll. (51). Ce secteur continue d'ailleurs à jouir de la bienveillance des jeunes états indépendants car il est, avec les ressources minières quand elles existent, la seule source de devises étrangères en les exportant, et cela leur permet d'équilibrer leur économie souvent très fragile. Cette situation fait que la culture traditionnelle n'est pas souvent en mesure de faire face à la demande toujours croissante en cultures vivrières, vu l'accroissement continu de la population; et, quand des catastrophes naturelles se manifestent (sécheresse, inondations, etc....) c'est la disette et le recours à l'aide des pays qui enregistrent une surproduction dans leur économie agricole. Toujours est-il que ces pays restent les plus grands consommateurs de céréales dont la nature varie suivant les régions (riz en Extrême Orient, blé, orge en Afrique du Nord et au Proche Orient, manioc, mil, sorgho en Afrique Centrale et Occidentale par exemple); ils sont gros consommateurs également de racines féculentes et de quelques légumineuses. Cette situation est résumée dans les tableaux III (47) et IV (52).

Il résulte de l'analyse globale de ces deux tableaux que, malgré les difficultés périodiques auxquelles on assiste, la ration est quantitativement suffisante, un apport calorique voisin des normes et même parfois supérieur est assuré par la nourriture traditionnelle, mais c'est l'aspect qualitatif qui laisse à désirer et cela est sans doute en rapport avec les produits d'origine animale dont nous allons voir la situation.

Les Protéines d'origine animale :

Pour ce groupe d'aliments, à savoir le lait et ses dérivés, la viande, le poisson et les oeufs, la situation est totalement inversée entre le groupe des pays développés et le groupe des pays du Tiers Monde par rapport à celle concernant les protéines d'origine végétale; l'écart est très grand et ne cesse de croître (voir Tableaux II et III)

Pourtant le Tiers Monde dispose du cheptel le plus important mais cette richesse est mal exploitée et souvent on la qualifie de "négative". En effet, les rendements tant en viande qu'en lait sont loin d'atteindre ceux enregistrés en Europe occidentale ou en Amérique. Cela vient des difficultés sérieuses que l'on rencontre en matière d'élevage, à savoir le manque de nourriture pour les bêtes et la lutte contre les maladies épizootiques qui n'a pas encore porté ses fruits.

TABLEAU III - REPARTITION DE LA POPULATION ET DES DISPONIBILITES ALIMENTAIRES MONDIALES, PAR REGION (1957 - 59).

Région	Population	Disponibilités alimentaires		
		Total	d'origine animale	d'origine végétale
		 pourcentage		
Extrême-Orient (y compris la Chine continentale).....	52,9	27,8	18,5	44,2
Proche-Orient	4,4	4,2	2,8	5,5
Afrique	7,1	4,3	2,8	6,3
Amérique latine	6,9	6,4	6,7	6,5
Europe (y compris U.R.S.S.)	21,6	34,2	38,4	26,2
Amérique du Nord	6,6	21,8	29,1	10,4
Océanie	0,5	1,3	1,6	0,9
Monde	100,0	100,0	100,0	100,0

TABLEAU IV - PLACE DES CEREALES, DES FECULENTS (RACINES ET TUBERCULES) ET DES LEGUMINEUSES DANS L'ALIMENTATION EN DES REGIONS DIFFERENTES D'AFRIQUE NOIRE.

Région	Céréales		Féculents		Légumineuses	
	Qté en kg	% apport calorique	Qté en kg	% apport calorique	Qté en kg	% apport calorique
Sénégal:enquête de la vallée du fleuve	203,3	77,1	1,1	0,1	6,4	2,4
Mali:enquête faite dans la zone Office du Niger..	229,3	89,2	1,8	0,4	9,9	4,2
Togo:enquête faite au pays Kabris	98,3	54,5	110,9	20,1	23,5	12,2
Côte d'Ivoire : enquête de Bougouan	9,8	3	666,1	82,0	1,8	1,0
Ouganda-Chiga ..	47,0	21,7	84,0	13,0	144,0	65,1

Ce tableau indique la consommation moyenne de l'alimentation par personne et par an (poids de l'aliment en kg) et l'apport calorique en pourcentage de l'apport calorique total.

./.

Le problème se complique encore par des considérations philosophiques, religieuses traditionnelles comme, par exemple, l'interdiction de la viande de porc en pays musulman ou le respect absolu de la vache sacrée en Inde; le docteur DUPIN et coll. (51) rapportent que, dans l'Ouest africain, on ne donne pas d'oeuf aux jeunes filles de peur de les rendre stériles, sans parler de la mentalité même des éleveurs qui s'obstinent à ne pas abattre leurs animaux parce que le bétail a toujours été considéré comme un signe de richesse, même s'il est en mauvais état de santé, et ce signe extérieur leur permet d'avoir des influences sur les gens qui les entourent.

Il faut dire aussi que les protéines d'origine animale constituent la partie la plus chère de l'alimentation, ce qui explique la faible consommation dont elles sont l'objet de la part des populations du Tiers Monde qui ont un pouvoir d'achat caractérisé d'abord par sa faiblesse et aussi par son instabilité.

Cette situation, si elle se poursuit, menace l'humanité tout entière. Aussi des organisations internationales furent créées pour essayer de promouvoir une politique capable de résoudre ce problème humain. Des plans d'intervention sont déjà mis à exécution (la solution du lait écrémé en poudre par exemple), d'autres sont prévus pour l'avenir : nous allons en voir les avantages et les inconvénients.

2. Avantages et inconvénients des différentes solutions

En recherchant une solution pour un problème posé dans un pays donné, la première idée logique qui vient à l'esprit consiste à voir quelles sont les possibilités dont on pourrait disposer sur place pour améliorer en partie, sinon en totalité, la situation.

Dans un problème tel que celui de l'alimentation, il est tout naturel de penser à l'agriculture mais, dans la majorité des cas, on s'est trouvé là devant d'immenses difficultés : en plus des maladies qui ravagent aussi bien animaux que végétaux, les structures même de l'agriculture de la plupart des pays en voie de développement sont mal adaptées pour faire face à la satisfaction des besoins toujours croissants de la population.

Des efforts conjugués de certains gouvernements et des organismes spécialisés des Nations Unies ont permis de réduire certains fléaux : ainsi la lutte en Afrique contre la glossine a permis de diminuer dans des proportions notables les cas de la maladie du sommeil qui épuise aussi bien l'homme que l'animal; la réalisation d'un système de prévention et de lutte contre les vols de sauterelles évite au fellah

marocain ou tunisien les années de pénurie; la régulation de certains cours d'eau à travers le monde permet d'éviter les inondations périodiques auxquelles on assistait dans certains pays. Parallèlement à ces réalisations, certaines cultures végétales ont été orientées vers la production de denrées alimentaires plus riches en protéines telles que les légumineuses, par exemple, mais c'est surtout vers les produits d'origine animale que vont les plus grandes préoccupations.

L'élevage :

Certains efforts ont été enregistrés dans ce domaine, ainsi l'amélioration des races locales par des sélections et des croisements avec les races productrices des régions développées, mais ces efforts se heurtent à des problèmes difficiles tels que celui du manque de l'alimentation du bétail, sans parler du climat particulier de certaines régions et des maladies qui empêchent la "révolution fourragère", préconisée par R. DUMONT, de s'implanter dans ces pays.

La mer et ses ressources :

La mer, en effet, met à la disposition de l'homme, tout le long de l'année, de larges possibilités pour se procurer à bon marché des protéines d'une haute valeur alimentaire. Malheureusement, le poisson constitue une denrée très fragile qui, quelques heures seulement après la prise, et si on ne prend pas les dispositions nécessaires, devient impropre à la consommation. De ce fait, la commercialisation du poisson frais exige pour chaque pays l'installation d'une infrastructure adéquate, particulièrement un transport rapide sous régime du froid; les aléas climatiques et l'absence de cette infrastructure empêchent l'introduction du poisson jusque dans la brousse africaine ou dans les villes de l'intérieur marocain, par exemple, à des prix abordables. Ce manque de contact avec cet aliment très riche du point de vue nutritionnel fait qu'il n'est pas encore entré dans les habitudes courantes de la population, à l'exception, bien entendu, des habitants de la côte. Le Docteur DUPIN (52) nous signale qu'en bien des régions d'Afrique on rencontre des groupes ethniques qui méprisent le poisson ou qui considèrent que la pêche est une occupation réservée à certaines castes; on voit, ajoute-t-il, des enfants atteints de carences protidi-ques graves dans des villages situés en bordure de rivières prodigieusement poissonneuses.

Heureusement, les mentalités changent à l'égard du poisson dans un certain nombre de pays en voie de développement où, de plus en plus, on voit des gens pratiquer la pêche d'abord en tant que source d'alimentation et ensuite en tant que génératrice d'un pouvoir d'achat en portant les produits pêchés sur le marché. Ce phénomène s'observe fréquemment dans les villes côtières marocaines par exemple; en outre, au Sénégal, d'après le Docteur DUPIN, on a enregistré un accroissement remarquable du tonnage fourni par la pêche tradition-

nelle en pirogue; ainsi on est passé de 19.500 tonnes en 1950 à 96.000 tonnes en 1964 et ceci indépendamment de la pêche industrielle qui se développe elle aussi sur le littoral africain.

Cependant, cette évolution, comme nous l'avons déjà dit, n'intéresse que le littoral et le problème des villes intérieures reste tout entier; d'ailleurs, quand le littoral n'arrive pas à absorber la quantité pêchée, des gaspillages sont enregistrés le plus souvent, ce qui est inadmissible dans des pays où l'on souffre de la malnutrition. C'est la raison pour laquelle on fait des efforts notables dans le domaine de la recherche des moyens de conservation du poisson; ainsi la déshydratation et la transformation du poisson en farine connaît une constante évolution; des usines d'importance commerciale pour la production de concentrés comestibles de protéines de poisson ont été installées en Afrique du Sud, au Chili, aux Etats-Unis, au Maroc et en Suède (50) mais la plupart ne fonctionnent pas encore à plein rendement.

A propos du Maroc, une usine pilote a été installée à Safi sous l'égide de la FAO; elle produisait 150 tonnes de farine par campagne au rythme de 600 kg. par jour (53). Des efforts conjoints de la FAO et du Ministère de la Santé du Maroc ont amené ces deux organismes à tester cette farine après d'une certaine catégorie de la population en incorporant 8 à 10 % de farine dans la fabrication du pain traditionnel; les résultats recueillis ont été satisfaisants et la création, à Agadir, d'une usine plus importante fut décidée. Cette usine fonctionne déjà, mais, paraît-il, exporte presque la totalité de sa production à l'étranger car il est difficile de changer du jour au lendemain les habitudes alimentaires de ces pays; néanmoins, il est souhaitable que de tels projets puissent atteindre la jeunesse en prévoyant l'introduction de ces produits dans les programmes des cantines scolaires.

Notons cependant que, si la farine de poisson a trouvé une place de choix parmi les aliments destinés au bétail, il n'en est pas de même pour celle destinée à l'alimentation humaine. En effet, celle-ci nécessite une préparation beaucoup plus soignée que dans le cas de la farine destinée aux animaux domestiques : il est indispensable par exemple que le produit final soit désodorisé de façon à le rendre acceptable par les consommateurs. Cela pose donc le problème d'un traitement de désodorisation n'altérant pas les facteurs nutritionnels (vitamines en particulier). En outre, cette fabrication nécessite des investissements très coûteux et requiert un personnel qualifié, tout cela aboutit finalement à un prix élevé de la farine ce qui limite encore sa diffusion auprès des populations.

De plus, devant l'ampleur du problème de la faim, il est indispensable de procéder à la modernisation de l'infrastructure de base nécessaire à la pêche dans les pays du Tiers Monde proches des mers pour pouvoir faire face aux besoins mondiaux. Malheureusement, cette modernisation, pour être efficace, nécessite un effort financier tel que les pays concernés ne sont pas capables d'y faire face sans une coopération internationale soutenue.

Tout ceci semble constituer un obstacle sérieux au développement de cette industrie dans les pays où sévit pourtant la malnutrition protéique; elle y est certes souhaitable mais, comme nous venons de le voir, les conditions sont défavorables.

Le lait et ses dérivés :

Ce groupe d'aliments présente un intérêt tout particulier grâce à sa haute valeur biologique, son apport minéral (phosphocalcique en particulier) et les facteurs vitaminiques qu'il contient; d'ailleurs le lait n'a-t-il pas le privilège d'être l'aliment exclusif pendant les premiers jours de la vie ?

Les produits qui en dérivent constituent un moyen de conservation du lait par l'élimination plus ou moins poussée du lactosérum, ce dernier entraînant avec lui quelques éléments solubles du lait; on aboutit ainsi aux fromages dans lesquels la matière sèche totale, aussi bien que les principes nutritifs pris séparément, se trouvent plus concentrés que dans la matière première d'origine.

Quant au séchage du lait, les perfectionnements apportés dans les procédés de fabrication permettent d'obtenir des poudres de lait qui contiennent pratiquement les mêmes principes nutritifs que le lait de départ.

Mais, dans le domaine laitier comme ailleurs, les pays sous développés se trouvent défavorisés, leur production est infime voire inexistante comparée à celle des pays économiquement avancés qui eux connaissent la pléthore dans ce domaine comme partout : leur production dépasse de beaucoup les besoins de leurs populations, de ce fait ils disposent de surplus importants et c'est précisément sur la base de cette surproduction des pays développés qu'ont été organisées les différentes interventions des organismes spécialisés de l'ONU (FAO, OMS, UNICEF,.....)

La solution du lait écrémé en poudre :

Devant l'ampleur du problème de la faim, les pays gros producteurs se sont lancés dans la conversion en poudre du lait écrémé liquide et en ont mis de grandes quantités à la disposition du F.I.S.E. afin que cet organisme puisse venir en aide aux mères et aux enfants des pays pauvres. En 1959, par

exemple, le gouvernement des Etats-Unis a fait don de 465 millions de livres de lait en poudre, le gouvernement canadien a donné 45 millions de livres, et d'autres pays ont fait des gestes similaires. Ce lait écrémé a rendu certainement de grands services aux populations africaines ou asiatiques car il s'est révélé une arme efficace contre le Kwashiorkor. Sous l'égide de ces organismes internationaux, le lait écrémé est introduit dans des programmes de cantines scolaires de nombreux pays; la création de centres de protection maternelle et infantile a permis à ces mêmes organismes de toucher un certain nombre de mères allaitantes et leurs nourrissons chez lesquels on a pu éviter ainsi les carences protéique, calcique et vitaminique.

Aux Philippines (54), une expérience intéressante a été tentée ces dernières années : il s'agit du "fild milk" qui satisfait environ 50 % de la demande commerciale du lait; c'est le produit provenant de lait écrémé (liquide ou reconstitué à partir de la poudre) auquel on ajoute des matières grasses végétales dans une proportion voisine de celle des matières grasses contenues dans le lait ordinaire; cette industrie connaît, depuis sa création, un développement en progression constante mais elle est essentiellement basée sur l'importation de la matière première; c'est la raison pour laquelle il est prématuré pour le moment de tirer une conclusion valable sur cette expérience pour tel ou tel pays en voie de développement.

Nonobstant ces résultats, l'opération "lait écrémé" n'a pas donné toute la satisfaction qu'on attendait d'elle et ce, pour plusieurs raisons.

En effet, dans les poudres fabriquées normalement, nous avons un taux d'humidité au plus égal à 3 %, ce qui est insuffisant pour assurer le développement des microbes mais la poudre doit être maintenue à l'abri de l'humidité. TREMOLIERES et coll. (55) font remarquer que les accidents de conservation des poudres sont surtout d'ordre chimique; pour les laits maigres, les altérations portent sur certaines vitamines et certains éléments de la caséine; une perte importante de la valeur alimentaire peut en résulter. Ce sont des accidents d'oxydation dûs à la présence d'air au contact de la poudre. En Union Sud-Africaine, d'après KON(17) la poudre de lait écrémé séché sur cylindres, livrée en sacs non imperméables, a donné pour le traitement du Kwashiorkor de moins bons résultats que des poudres importées et mieux protégées. Aussi les méthodes de fabrication et de conditionnement de la poudre de lait jouent-elles un rôle primordial dans l'appréciation de sa qualité. Généralement, les poudres de lait sont livrées dans des boîtes étanches à l'eau et à l'air et la poudre y est emballée sous atmosphère inerte ou sous azote.

Malheureusement, il en est tout autrement dans les pays en voie de développement.

Le gouvernement du pays qui reçoit les dons en nature des organismes bénévoles se charge de la distribution des denrées après des populations nécessiteuses. En ce qui concerne le lait écrémé, il est distribué dans des boîtes en fer blanc de 3 à 5 kg. bien protégées contre toute altération; à la première consommation, la boîte venant d'être ouverte, tout est normal, mais ce qui reste dans la boîte est désormais au contact de l'air, de l'humidité sans parler des insectes possibles et de tous genres; le lait prend alors un goût qui ne le fera pas apprécier à la prochaine consommation; un mépris pour le lait écrémé s'instaure alors chez les familles; ceci est dû essentiellement au manque d'information sur la façon dont il faut conserver la boîte entamée : souvent on ferme mal la boîte et il arrive même que l'on oublie de le faire : en outre, il faut dire que, dans la plupart des cas, les conditions d'hygiène que l'on rencontre chez les gens nécessiteux de ces pays ne permettent pas d'assurer aux denrées alimentaires en général et au lait en particulier, une conservation parfaite, et ceci est en rapport étroit avec leur niveau de vie. Cette situation fait qu'il s'est instauré des circuits commerciaux pour les produits destinés à remédier à la malnutrition et auxquels on ne s'attendait pas au départ : les familles dont les revenus sont la plupart du temps inexistantes et pour lesquelles on organise des distributions de denrées alimentaires, dont le lait écrémé en poudre, préfèrent vendre ce dernier pour acquérir d'autres articles tels que le thé, le sucre ou le pétrole lampant. Autrement dit, mis à part les hôpitaux et les oeuvres scolaires où l'on est obligé de manger ce que l'on donne, le lait écrémé en poudre est détourné du but qui lui est initialement assigné; il va plutôt garnir la table de ceux qui satisfont déjà largement leurs besoins quotidiens de protéines car ce sont ceux-là qui l'achètent aux pauvres puisqu'ils ont les moyens financiers pour l'acquérir et disposent de conditions meilleures pour une bonne conservation des denrées alimentaires (habitat moderne, réfrigérateur, etc....).

Notons également que le plus souvent le lait écrémé est mal reconstitué, le rapport de la quantité de poudre à la quantité d'eau n'étant pas respecté; l'analphabétisme qui règne parmi la majeure partie des membres de la famille ne permet pas l'exploitation des indications mentionnées sur la boîte. Toute cette situation n'assure pas au lait écrémé en poudre toute l'audience qu'il mérite auprès de la population.

Le fromage fondu vient également, au côté du lait écrémé, renforcer la lutte contre la malnutrition mais sa teneur en matière grasse pose de sérieux problèmes de conservation dans les pays chauds.

De toute façon, le lait écrémé aussi bien que le fromage fondu ne sont pas, à eux seuls, en mesure de solutionner le problème protéique mondial et il faut trouver d'autres solutions économiquement possibles. Or il existe un produit également à base de lait écrémé et qui n'a pas retenu jusqu'à présent l'attention des nutritionnistes : il s'agit de la caséine qui n'occupe pas, pour le moment, la place qui devrait lui revenir dans l'alimentation humaine.

En effet, les caséines ont une valeur alimentaire élevée, étant constituées pour 80 % environ, par une protéine animale digestible. Jusqu'à présent, la caséine a été largement utilisée pour la supplémentation des rations destinées aux animaux domestiques, particulièrement les volailles.

BEAU (56) nous fait remarquer que si les caséines ne sont pas mangeables, cela tient d'une part à leur goût fade (ou désagréable si la caséine a déjà subi un début de fermentation) et d'autre part à ce qu'on ne peut les rendre comestibles par la cuisson. Cependant, lors de la dernière guerre, on a vu circuler des pains et des biscuits à la caséine pour remplacer les pains au gluten. On l'utilise aussi sous forme de pain ou biscuits de régime obtenus en mélangeant à de la farine de blé une certaine quantité de caséine lactique très bien lavée, sans acidité, sans goût ni odeur et réduite en farine fine. Elle est utilisée également sous forme de liant dans la fabrication des saucisses et de la charcuterie diverse. De toute façon, cet usage relativement réduit dans l'alimentation humaine n'intéresse que les pays développés. De plus, si la caséine n'a pas trouvé une utilisation plus grande en gastronomie, c'est parce qu'elle a trouvé naissance dans des pays de pléthore alimentaire et qui exigent pour satisfaire leurs besoins nutritionnels des produits de qualité. En outre, dès son origine, la caséine a trouvé des applications industrielles très importantes; c'est en effet vers 1900, nous signale BEAU (56) que l'aventure industrielle commença pour la caséine avec l'apparition des matières plastiques qui consomment beaucoup de caséine-présure. La papeterie l'utilise également pour les impressions de luxe; les Américains, quant à eux, ont pensé l'incorporer comme lubrifiant interne dans les pneumatiques; n'oublions pas également la diffusion assez importante que connaît la caséine parmi les industries des bois contreplaqués.

Toutefois, à l'heure actuelle, nous assistons à une très grande concurrence livrée par certains produits synthétiques à la caséine dans le domaine industriel; nous pouvons donc nous interroger sur le devenir de ce produit. Va-t-on se pencher plus sérieusement sur les possibilités qu'offre la caséine pour corriger le déficit protéique de ces centaines de millions d'humains ? On peut l'espérer.

Toujours est-il que depuis quelques années l'emploi de la caséine dans le domaine alimentaire se développe de plus en plus dans certains pays tels que les U.S.A. ou le Japon (57). A propos des USA, POARCH (58) nous rapporte que si l'industrie des adhésifs délaisse de plus en plus la caséine pour des formules contenant différentes résines synthétiques et émulsions diverses de polymères, l'utilisation de la caséine dans l'alimentation humaine connaît un essor considérable depuis cinq ans; il révèle que le marché américain en consomme en ce moment 10.000 tonnes mais ce n'est, paraît-il, qu'un début.

Il faut noter que, tout comme la farine de poisson à usage alimentaire, la caséine alimentaire nécessite une préparation plus soignée que dans le cas des caséines à usage industriel ou animal.

Cependant, à côté de ces deux solutions, à savoir :

1°) celle de la caséine qui peut nous procurer environ 80 % de protéines digestibles mais dont l'emploi est très restreint pour le moment dans le domaine alimentaire.

2°) celle du lait écrémé en poudre qui nous fournit 36 % de protéines et rend ainsi des services louables auprès des enfants et des mères asiatiques et africaines mais qui, malheureusement, pose des problèmes, à tous les niveaux, que nous avons évoqués plus haut.

Posons-nous alors la question de savoir s'il n'existe pas une solution intermédiaire entre le lait écrémé en poudre et la caséine ?

Le fromage maigre séché peut répondre à cette question; son pourcentage de protéines est compris entre celui du lait écrémé (36 %) et celui de la caséine (environ 80 %). Il offre de nombreux avantages que nous analyserons après en avoir étudié les aspects technologiques et nutritionnels; nous verrons également les perspectives du développement qui pourrait s'offrir à cette solution.

CHAPITRE II

TECHNOLOGIE DU FROMAGE MAIGRE SECHE

I. Introduction

Depuis la haute antiquité, l'homme s'est rendu compte de la difficulté de conserver du lait liquide.

Des circonstances bien particulières (*) l'ont amené à la notion de fromage qui est une forme excellente de conservation des deux constituants insolubles du lait : la caséine et la matière grasse.

Certes les fromages se rencontrent à travers le monde entier; mais si dans les pays à vocation laitière, la fromagerie connaît une organisation technique et économique digne d'une industrie, il est des pays où la fabrication du fromage se déroule dans un cadre local très restreint, à des périodes bien limitées de l'année et avec des moyens artisanaux.

Ainsi, au printemps, certains "fellahs" marocains, par exemple, disposent d'une production laitière relativement importante. Ils s'en servent d'abord pour fabriquer le beurre nécessaire à la consommation familiale et consomment l'excédent sous forme de "jben" (fromage frais additionné de son sérum et souvent sucré), en faisant coaguler le lait soit par des épines d'artichauts sauvages séchées et finement moulues, soit par un extrait de présure acheté en pharmacie.

Cette technique du "jben" peut prendre parfois la forme d'une "petite industrie" locale chez les habitants des campagnes très proches des centres urbains de consommation; le caillé obtenu est égoutté puis plus ou moins salé et il est vendu dans les deux ou trois jours qui suivent sa fabrication, sur le marché hebdomadaire le plus proche. Cette pratique permet à ceux qui l'adoptent d'acquérir un certain pouvoir d'achat pendant toute la durée de lactation.

Une technique analogue suivie d'un séchage au soleil pendant plusieurs jours est pratiquée par certains habitants du Népal.

Toujours est-il que l'homme, partout ailleurs, s'est rendu compte de l'intérêt que présentent les fromages qui, d'après ALAIS (40) constituent l'un des meilleurs aliments de l'homme, ceci, non seulement en raison de leur remarquable valeur

(*)- On attribue la découverte du fromage à un voyageur du désert qui, le premier, a observé la coagulation du lait qui devait lui servir de nourriture au cours de son déplacement.

nutritive (matière azotée sous différentes formes, matières grasses, calcium, phosphore, etc.....) mais aussi en raison des qualités organoleptiques extrêmement variées qu'ils possèdent; or, dit-il, la variété est source de plaisir !

II. Historique du fromage maigre.

Si, dans les traditions alimentaires, il est plus courant de trouver sur la table du consommateur, le fromage habituel avec toute sa matière grasse, il n'en reste pas moins que les fromages maigres ont existé tout le long de l'histoire fromagère.

De nos jours, la consommation du fromage maigre fait timidement son apparition dans certains régimes mais c'est surtout pendant les crises économiques et les guerres que l'on voit circuler ce genre de fromage.

POURIAU et coll. (1) nous décrivent un certain nombre de techniques de fabrication du fromage maigre à la fin du XIXème siècle et au début du XXème. A cette époque, pour se procurer le fromage maigre destiné à l'alimentation des journaliers dans les fermes, on abandonne le lait à lui-même dans un endroit suffisamment frais (12°) pour que la crème ait le temps de monter avant la coagulation spontanée du caséum.

Une fois la crème enlevée et le lait caillé, on remplit les moules, ou caserons, avec le caillé obtenu. Ce caillé, suffisamment égoutté, constitue les fromages que l'on mange frais dans les fermes en y ajoutant ordinairement un peu de sel et que l'on désigne sous les noms de fromages maigres mous ou à la pie. Une fois sortis des moules, ces fromages sont lavés, rincés à grande eau et séchés. A cet effet, on les accroche quelquefois à des chevilles implantées dans un châssis qu'on expose à l'air.

Toujours d'après A.F. POURIAU et coll., la fabrication de fromage maigre et dur au Danemark a été la conséquence naturelle de l'énorme développement pris par l'industrie beurrière dans ce pays et de l'impossibilité de faire servir la totalité du lait écrémé à l'alimentation de l'homme ou des animaux. Mais devant la concurrence hollandaise avec le fromage maigre et dur de Leyde, on a dû renoncer à cette fabrication. En ce qui concerne le fromage hollandais de Leyde, il s'agit d'un fromage à pâte ferme provenant de lait écrémé essentiellement. En outre il est épicé et salé intérieurement - les couches formant les parties inférieure et supérieure sont uniquement salées.

A l'heure actuelle, certains pays revalorisent la partie non grasse du lait en consommant des fromages maigres. ALAIS (40) nous signale le cas de l'Allemagne où l'on consomme des fromages affinés à base de lait écrémé et dont le type est le "Quarg"; il y a aussi l'exemple du "Cottage Cheese", fromage blanc coagulé à la présure ou à l'acide. En France, le consommateur n'apprécie pas les fromages maigres. Quoi qu'il en soit, la revalorisation du lait écrémé dans les pays gros producteurs reste encore à un niveau inférieur malgré les campagnes menées en sa faveur auprès de la population, malgré aussi son utilisation assez importante dans le domaine de l'alimentation animale ou dans l'industrie (caséine, colle, matières plastiques, etc...); signalons que pour cette dernière utilisation, on note depuis quelques temps une régression des produits à base de lait écrémé en faveur de leurs homologues synthétiques, ce qui ne va pas, si ce mouvement se confirme, sans augmenter les disponibilités déjà importantes en lait écrémé liquide dans les pays riches; ces disponibilités restent inutilisables et, de ce fait, sont purement et simplement gaspillées à un moment où toutes les statistiques confirment l'existence sur notre terre de deux hommes sur trois qui ne mangent pas à leur faim et souffrent de toutes les formes plus ou moins aiguës de la malnutrition.

III. Technologie du fromage maigre séché.

Tous nos essais de fabrication de fromage maigre séché se sont déroulés à la Laiterie Coopérative de Grièges dans le département de l'Ain (France). Ainsi, nous avons pu faire deux essais à deux périodes différentes de l'année : Octobre-Novembre 1965 et Février 1966.

La fabrication de notre fromage comporte, à quelques différences près, les phases que connaît l'élaboration de tous les fromages courants à savoir :

- La coagulation du lait
- La mise en moule et égouttage des fromages obtenus.
Notons que pour les fromages courants il y a une opération qui précède la mise en moule et qui consiste à trancher le caillé pour faciliter l'exsudation du sérum ou synérèse.
- Le démoulage puis le salage.
- La finition du produit qui correspond au stade de l'affinage pour les fromages courants. Cette phase consiste pour nous à sécher les fromages, à surveiller leur évolution et particulièrement celle de l'extrait sec dans le temps; en un mot, notre objectif est d'avoir à la fin de toutes les opérations un produit stable qui, moyennant quelques précautions pendant le transport,

arrivera sur la table de l'Africain de la brousse ou de l'Asiatique du Sud-Est avec tous ses principes nutritifs en bon état.

1. Processus de fabrication

11. Préparation du lait

Le lait arrivant à la laiterie subit tous les contrôles habituels, à savoir la détermination de :

- son acidité
- sa densité
- sa richesse en matière grasse
- sa richesse en extrait sec dégraissé
- sa propreté bactérienne et sa propreté physique
- des substances frauduleuses et prohibées par la loi.

Pour cela, on prélève un échantillon suffisant pour toutes ces recherches que l'on exécute au laboratoire; ensuite, le lait passe dans l'écumeuse centrifuge avant d'être pasteurisé à 72-73°C pendant 15 secondes environ; de là, il est acheminé par tuyauteries vers la salle de fabrication.

D'après ALAIS (40), la pasteurisation du lait augmente le rendement fromager pour les raisons suivantes :

- dénaturation des protéines solubles, dont l'étendue est proportionnelle à la température atteinte,
- meilleure rétention de la matière grasse dans le caillé,
- insolubilisation d'une partie des sels minéraux.

12. Mise en présure du lait

Le lait maigre sortant du pasteurisateur et arrivant à la salle de fabrication titrait 0,25 g. de matière grasse par litre. Pour pouvoir donner au fromage un goût moins fade, nous ajoutons un peu de crème (1 litre de crème titrant 380 g. de matière grasse par litre, dans 100 litres de lait écrémé). Ce lait standardisé renfermait 3 g. de M.G. par litre.

Ensuite, nous avons réensemencé le lait avec deux souches de ferment lactique : 100 cm³ environ d'une solution renfermant Flora Danica et Deutschland Flora qui proviennent de laboratoires danois et allemand, puis on ajoute aux 100 litres de lait 50 cm³ d'une solution de chlorure de calcium qui est employé comme adjuvant de coagulation.

Toutes ces opérations ont lieu entre 9 heures et 11 heures du matin.

Quand la température du lait est tombée aux environs de 22-23°C, on emprésure le contenu des bassines à raison de 6 cm³ de présure pour 100 litres, la force de la présure étant de 1/10.000.

La température de la salle a aussi une importance sur la fabrication, particulièrement en hiver; elle est en général voisine de 23°C; en hiver, elle ne doit pas descendre au-dessous de 19°C.

Pendant toute la durée de la prise du caillé, nous avons observé les mesures nécessaires pour maintenir une température ambiante voisine de celle qui régnait au moment de l'emprésurage.

13. Moulage du caillé

Les bassines sont abandonnées ainsi jusqu'au lendemain matin, vers 7 heures, pour procéder au moulage. Une mince couche de sérum surnage un caillé d'une assez bonne texture; il n'y a pas d'opération de tranchage du caillé, le moulage se fait donc directement à l'aide d'une louche dans des moules cylindriques en matière plastique d'un diamètre de 6,5 cm. Ces moules sont placés sur des plaques en acier inoxydable sur lesquelles sont posées des nattes.

Nous avons pu mesurer la quantité de sérum provenant de cette fabrication : elle représentait 80 % environ de la quantité de lait employée.

Au début de l'après-midi, les moules avec leur contenu sont retournés et l'égouttage continue ainsi jusqu'au lendemain matin.

14. Le salage

Dès que les fromages sont démoulés, on les pèse puis on procède à l'opération du salage; l'action du sel s'ajoutant à celle du pH (acide lactique) permet en effet de lutter contre les microorganismes nuisibles. Le sel permet également de drainer le sérum de l'intérieur du fromage vers l'extérieur, ce qui constitue ainsi un complément d'égouttage. Dans notre cas particulier, ce dernier égouttage est en fait une évaporation puisque le séchage suit immédiatement. D'après ALAIS (40), le sel a une action consistant à augmenter légèrement la solubilité des protéines du fromage frais; en outre, le salage à froid élimine un liquide qui est plus dilué que le lactosérum; en conséquence, ajoute-t-il, les substances solubles augmentent dans la partie aqueuse de la pâte.

Nous retenons ces effets de l'action du sel pour expliquer certains points dans le domaine nutritionnel.

A la fin de toutes ces opérations, les fromages sont placés sur des claies en acier inoxydable qui peuvent contenir jusqu'à quarante fromages; elles sont constituées d'un grand nombre de fils en acier inoxydable séparés entre eux de quelques millimètres; elles sont, en outre, munies d'un système de pieds leur permettant de s'emboîter les unes dans les autres. L'ensemble est posé sur un cadre à roulettes, ce qui permet un transport aisé et hygiénique des produits vers les lieux du séchage évitant ainsi toute manipulation.

Avant de voir le mode de séchage, nous donnons ci-dessous quelques résultats d'analyses effectuées au Laboratoire de l'usine sur les produits utilisés.

2. Quelques analyses des produits utilisés au cours de la fabrication

Nous avons pu procéder aux analyses courantes pratiquées dans l'industrie laitière pour juger de la qualité des produits employés.

21. Fraîcheur du lait ou acidité.

A 10 cc. de lait additionné de 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine à 1 % dans l'alcool à 95°A., on ajoute très progressivement une solution de soude N/9 dite Dornic jusqu'au moment où l'on aperçoit une couleur rose affectant le lait.

Le lait que nous avons employé titrait 16°5 Dornic.

22. Détermination de la matière grasse dans le lait.

Nous avons employé la méthode Gerber; la précision est de l'ordre de 0,5 %. Il s'agit d'une attaque du lait en milieu sulfurique. On met dans l'ordre dans le butyromètre :

- 10 cc de H_2SO_4 1525
- 11 cc de lait
- 1 cc d'alcool.

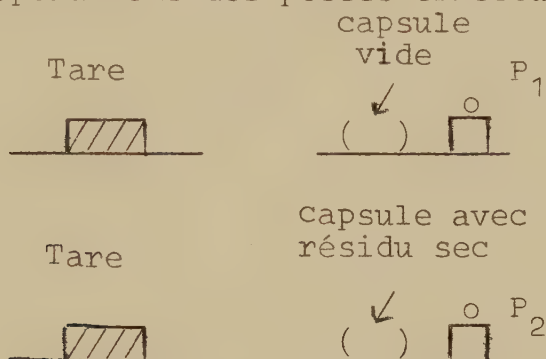
On homogénéise et on centrifuge pendant 3 minutes à 1.000 tours par minute. Avant la lecture, on plonge le butyromètre pendant un moment dans un bain-marie à 65°C.

Pour le lait écrémé, on a apprécié approximativement les quelques traces de matière grasse à 0,25 g. par litre.

Quant au lait standardisé, il titrait 3 g. par litre.

23. Extrait sec du lait et du sérum231. Lait écrémé et lait standardisé

10 ml. de lait sont mis dans une capsule tarée, préalablement lavée, séchée à l'étuve et refroidie dans un dessiccateur. Cette capsule, avec son contenu, est placée dans une étuve réglée à 100° pendant environ 7 heures; puis elle est mise à refroidir dans une atmosphère sèche (dessiccateur). Elle est ensuite pesée une première fois puis remise à l'étuve jusqu'à ce que l'on arrive à un poids constant. Nous schématisons ci-dessous les opérations des pesées effectuées :



$$\text{Extrait sec total/litre} = (P_1 - P_2) \times 100$$

Ainsi, nous avons obtenu pour le lait écrémé une moyenne de 93,65 g. d'extrait sec total par litre. Et pour le lait standardisé 97,0 g. par litre.

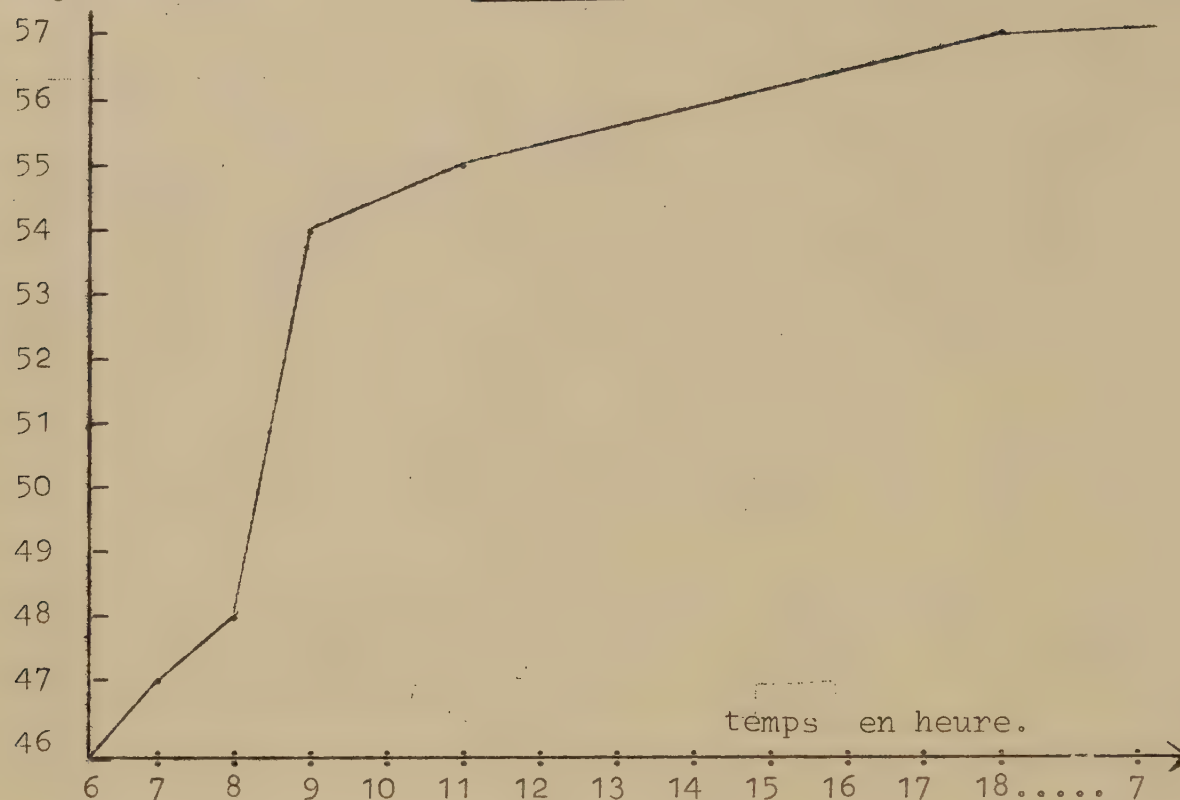
232. Sérum :

La même méthode appliquée au sérum a révélé qu'un litre de sérum provenant de cette fabrication renfermait 65,85 g. de matière sèche.

24. Evolution de l'acidité du sérum au cours de l'égouttage.

Nous avons mesuré l'acidité du lacto-sérum à des intervalles réguliers tout le long de sa libération et ce, pour contrôler l'égouttage. A chaque essai, nous avons opéré sur 10 cm³ de sérum additionné de 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine et nous avons titré avec de la soude Dornic. Nous avons enregistré la courbe I.

Degrés Dornic

COURBE I25. Poids du fromage obtenu.

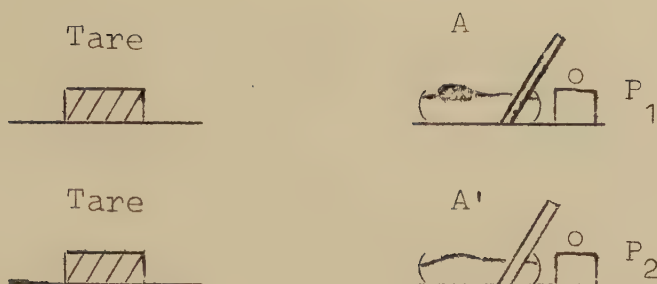
Après le démoulage et avant le salage, nous avons pesé les 112 fromages obtenus avec les 100 litres de lait employés.

Nous avons obtenu 18,300 kg., soit, en moyenne, 163,5 g. par petit fromage.

26. Extrait sec du fromage avant le séchage.

Une capsule contenant du sable de Fontainebleau et un agitateur en verre est mise dans une étuve à 100° pour séchage pendant 10 à 20 minutes. Elle est ensuite refroidie dans un dessiccateur puis tarée.

On y ajoute 5 g. de fromage exactement pesé comme il est schématisé ci-dessous :



La capsule A contient du sable de Fontainebleau, un agitateur et 5 g. de fromage.

La capsule A' représente le stade de A après dessiccation. Elle a séjourné 15 heures à l'étuve réglée entre 100 et 110°C.

Pour P ₁	on avait	13,5415 g.
Pour P ₂	on avait	12,3640 g.
		1,1775 g.

Soit $1,1775 \times 20 = \underline{23,55 \% \text{ d'extrait sec.}}$

27. Rendement et calcul du coefficient G

A.M. GUERULT (41) désigne par le coefficient G, dans une fabrication fromagère, la quantité en grammes d'extrait sec dégraissé laissée dans le fromage complètement égoutté et salé par 1 litre de lait emprésuré.

Ce coefficient G varie beaucoup selon les fabrications car il dépend de plusieurs facteurs :

- type de fromage (travail plus ou moins poussé du caillé)
- matière grasse du lait emprésuré
- extrait sec dégraissé du lait traité
- réaction de ce lait à la présure
- importance du salage.

En moyenne on peut compter sur les coefficients G suivants :

Pâtes molles à égouttage spontané:	Carré de l'Est:	31-32
	Camembert	32-33
Pâtes molles à égouttage forcé.....	St Paulin	29-30
Gruyère		28-29
Suisse		34-35

En ce qui concerne notre fabrication, nous avons :

$$\begin{aligned}\text{Extrait sec dégraissé \%} &= \text{Extrait sec total\%} - \text{M.G.\%} \\ &= 23,55 - 4 = 19,55\end{aligned}$$

Extrait sec dégraissé total =

$$= \frac{\text{E.S.D. \%} \times \text{Poids du fromage obtenu}}{100}$$

$$= \frac{19,55 \times 18,3}{100} \approx 35,7$$

d'où
$$G = \frac{\text{ESDT}}{V} \times 100 \approx 35$$

3. Mode de séchage

Le séchage du fromage constitue l'une des phases les plus importantes car la stabilité du produit va dépendre de son degré d'humidité final. Il est souhaitable donc que l'on arrive à éliminer le plus d'eau possible contenue dans le produit.

La solution du fromage maigre séché telle que nous la concevons suppose deux possibilités :

31. Le fromage maigre est fabriqué dans les pays développés et gros producteurs de lait.

Les grandes disponibilités en lait maigre en provenance des beurrieres sont alors transformées en fromage maigre, destiné à l'exportation en faveur des pays où la malnutrition et la carence protéique se posent avec toute leur acuité. Pour les sécher, en vue de leur procurer un pouvoir de conservation efficace jusqu'au moment où ils sont utilisés par les populations intéressées, ces fromages bénéficieraient alors, sur place, des progrès techniques en matière de séchage des pays industriels. On pourrait même penser dans ce cadre que le jour où la lyophilisation deviendrait économiquement possible, on pourrait appliquer ce mode d'extraction d'eau qui acquiert au produit une qualité bien supérieure sur le plan nutritif. A ce sujet, déjà en Allemagne et aux U.S.A. (42), on lyophilise une certaine catégorie de fromage (fromage blanc ou "cottage cheese") et d'autres produits laitiers; nous espérons donc que d'ici quelques années, la lyophilisation pourra s'étendre aux produits alimentaires destinés aux pays pauvres grâce à un abaissement des coûts d'installation. Cette méthode pourrait solutionner, dans des conditions satisfaisantes, les problèmes de conservation d'un certain nombre de produits tels que la poudre de lait, par exemple .

32. Le fromage maigre est fabriqué sur place dans les pays en voie de développement.

Cela suppose que la matière première (le lait écrémé) existe parmi leurs productions alimentaires. Or, partout dans ces pays, le développement des industries laitières n'est qu'amorcé, particulièrement dans les régions favorables; et, malgré l'introduction des progrès techniques dans le domaine sanitaire et dans les méthodes mêmes de l'élevage, le rendement du cheptel laitier n'est pas satisfaisant pour autant. Il n'est pas non plus question de reconstituer le lait écrémé en poudre acheté à l'extérieur ou reçu à titre de faveur par l'intermédiaire des organisations internationales car l'opération n'est pas concevable économiquement : il est plus rentable de transformer le lait écrémé liquide directement en fromage maigre dans les pays producteurs plutôt que d'envisager de le transformer en lait écrémé en poudre dans les pays riches et puis en fromage maigre dans les pays pauvres.

En outre, les infrastructures laitières sont inexistantes dans la plupart des cas ou bien sont très lentes à se développer, sans parler de l'absence complète d'installation de chauffage adéquate.

Ce qui fait qu'à notre avis, seule la solution de fabriquer les fromages maigres dans les pays riches est souhaitable, du moins pour le moment.

Pour sécher les fromages, nous avons eu recours à un mode de séchage très simple : les fromages sont placés dans un couloir sur des claies en acier inoxydable et bien espacées entre elles; un ventilateur hélicoïde est placé à l'entrée du couloir et pulse de l'air en direction des fromages; un autre ventilateur est placé à la sortie et a pour rôle d'évacuer l'air qui s'est humidifié lors de son passage sur les fromages.

Il arrivait que l'état hygrométrique de l'air ne favorisait pas bien le séchage; on réchauffait alors l'air pulsé en faisant fonctionner des radiateurs de chauffage central devant lesquels on plaçait le premier ventilateur.

Signalons que, pour des raisons économiques, les ventilateurs fonctionnaient surtout la nuit .

4. Evolution de l'extrait sec au cours du séchage.

Quinze jours après la fabrication du fromage, nous avons pesé 40 fromages; ils pesaient 2,660 kg. soit en moyenne 66,5 g. par fromage.

Quant à l'extrait sec effectué sur un échantillon émanant de quatre fromages pris au hasard, il était de 58,05 %. Nous avons continué à sécher et six jours plus tard, 28 fromages pesaient 1,640 kg. soit 58,5 g. par fromage et l'extrait sec avait atteint 64,66 %.

Au bout d'une vingtaine de jours après la fabrication, nous avons arrêté le séchage; les fromages emballés ont continué toutefois à perdre de l'eau puisque quelques mois après lors d'une analyse effectuée au Centre National de la Recherche Zootechnique, nous avons trouvé une moyenne de 67,84 % pour l'extrait sec.

5. Emballage des fromages.

Dans le domaine de l'emballage des produits alimentaires, on assiste depuis quelques années à des techniques de plus en plus perfectionnées, ce qui a pour résultat d'accroître la consommation (43). En effet, de nouveaux matériaux (Cryovac, Parakote, Pliofilm) ont fait leur apparition et assurent aux produits une protection et une conservation efficaces.

C'est ainsi que nous avons utilisé un emballage de ce genre pour notre fromage. Le fromage est emballé dans une pellicule transparente et rétrécissable, et fermée hermétiquement, à l'aide de plaques chauffantes; puis, grâce à un tapis roulant, les fromages passent dans un tunnel de rétrécissement. Ce mode d'emballage est imperméable aux gaz et à la vapeur d'eau et évite toute altération par les moisissures.

Remarquons que, pendant nos essais de fabrication, nous disposions à l'usine de moules cylindriques; on obtenait ainsi des petits fromages cylindriques qui, à la fin du séchage, pesaient de 40 à 50 g. chacun. Il est possible de conserver cette même forme et de les emballer soit individuellement comme nous l'avons fait, soit d'envisager un emballage collectif (20 ou 100 fromages) dans un sachet fait dans les matériaux nouveaux que nous avons mentionnés et sous vide.

Cependant, renseignements pris dans une entreprise spécialisée dans ce genre d'emballage, il serait plus intéressant et même plus économique d'envisager pour ce fromage une forme plutôt parallélépipédique. On produirait des unités-consommateurs de faible poids (40 à 60 grammes) et de faible épaisseur (1 à 2 cm). Le mode de conditionnement le plus approprié est alors un sachet fabriqué à partir de pellicules complexes qui sont obtenues par superposition de plusieurs couches de matériaux dont chacun conserve son intégrité au sein de l'ensemble et apporte à celui-ci les propriétés qui le caractérisent; il s'agit en général de pellicules de polyesters et de polyamides. Ces produits sont enduits de polyvinylidène pour assurer à l'emballage une protection efficace contre l'humidité et l'air. Quant aux matériaux de soudure, on uti-

lise couramment le polyéthylène qui assure une soudure très étanche et très solide du sachet et qui, de plus, possède une imperméabilité élevée vis à vis de la vapeur d'eau.

Avec ce genre d'emballage, nous sommes sûr d'arriver sur le marché africain ou asiatique avec un produit bien stable et qui se conservera jusqu'au moment de son utilisation.

De plus, cette forme parallélépipédique est beaucoup plus facile à loger dans des caisses que des formes cylindriques.

Il est vrai qu'un tel mode d'emballage demande au départ un investissement assez important mais, si la fabrication des fromages est effectuée dans les pays développés, cela ne pose pas de problèmes insolubles car la plupart des usines importantes dans ces pays pratiquent ce mode d'emballage et possèdent donc les machines.

Notre but n'est pas de rechercher l'emballage le plus cher mais plutôt le plus efficace tout en étant le plus économique, car s'il y a un problème qui se pose pour les pays sous-développés, c'est bien celui de la conservation des aliments. En effet, si la chaîne du froid est largement développée dans les pays industriels, de l'usine jusqu'à la ménagère, en passant par le commerçant, il n'en est pas de même pour les pays africains ou asiatiques où seuls les habitants d'un certain niveau de vie - et ils sont peu nombreux comparés à la masse populaire - disposent de réfrigérateur.

Il n'est pas non plus question de tomber dans l'erreur où se sont trouvés certains industriels du monde développé qui ont envoyé des protéines luxueusement emballées sur le marché des pays pauvres à des prix inaccessibles. En effet, si ces gens-là ont besoin de protéines de qualité, il n'est pas nécessaire qu'elles soient luxueusement emballées: l'essentiel est que l'emballage soit efficace et il n'est pas impossible de concilier efficacité et économie dans ce domaine.

6. Stockage des fromages

Les fromages ainsi fabriqués et emballés nous ont servi pour faire quelques essais de conservation. Ainsi un lot important est placé au réfrigérateur du laboratoire depuis le mois de Décembre 1965 et jusqu'à ce jour ces fromages se trouvent en bon état de conservation. Nous nous sommes précisément servi de ces mêmes fromages pour préparer les régimes des animaux lors des expériences biologiques à l'I.B.A.N.A., en Octobre 1966.

En outre, sachant que la ménagère africaine ou latino-américaine ne dispose pas de réfrigérateur, nous avons gardé quelques uns des fromages dans de simples garde-manger sans aucune précaution spéciale. Ils se sont bien conservés pen-

dant plus d'un an, ce qui n'est pas négligeable pour des pays où la conservation des denrées alimentaires pose de sérieux problèmes.

IV. Le comportement des pays en voie de développement vis à vis du fromage.

Les populations du Tiers Monde ne consomment pas beaucoup de fromage, tout d'abord parce qu'il ne s'agit pas d'une production locale et, en outre leur pouvoir d'achat ne leur permet pas d'acheter les fromages importés auxquels d'ailleurs les gouvernements de ces pays imposent, à tort, de lourdes taxes à l'entrée. D'ailleurs ces importations sont très faibles et leur destination est connue à l'avance : ces fromages vont garnir la table des Européens résidant dans ces pays et celles aussi des citoyens à pouvoir d'achat assez élevé et bien au courant de la valeur alimentaire de ces produits.

A propos de l'Inde par exemple, et d'après A. SIMON (44), on peut dire que le fromage est étranger à la diététique de l'Indien commun : il y a cependant une petite mais appréciable demande de fromage en Inde due aux Européens et aussi aux riches Hindous pratiquant les habitudes gastronomiques occidentales.

Cette absence de fromage dans les habitudes alimentaires des populations du Tiers Monde - exception faite de quelques fromages locaux et dont la production d'ailleurs est insignifiante - fait que le palais aussi bien que l'odorat n'arrivent pas à se familiariser avec les odeurs caractéristiques des fromages. Il est fort probable que certaines personnes préfèrent endurer la faim plutôt que de la satisfaire avec un camembert au goût assez prononcé.

Tout cela exige une étude des goûts de ces populations chaque fois que l'on envisage d'introduire sur leur marché une denrée nouvelle. Pour illustrer ceci nous citons deux exemples :

Avant la dernière guerre, le Français consommait peu ou pas du tout de yaourt et depuis qu'on a trouvé "l'astuce" consistant à le parfumer à l'aide de différentes essences ou à lui adjoindre des fruits, la consommation ne cesse d'augmenter : il paraît qu'on a quadruplé la consommation d'avant-guerre.

Le deuxième exemple : nous sommes allé le chercher au Maroc où, au cours de ces dernières années, avec l'aide de la F.A.O., on a vu s'installer à Agadir une usine fabriquant une farine de poisson pour l'alimentation humaine, mais les experts qui se sont penchés sur le problème ne sont pas arrivés, du moins pour le moment, aux résultats qu'ils escomptaient parce qu'on n'arrive pas à bouleverser les habitudes alimentaires des habitants du jour au lendemain.

C'est la raison pour laquelle nous avons envisagé pour le fromage maigre séché l'introduction en cours de fabrication de tel ou tel arôme suivant la destination finale du produit. Ainsi un fromage à l'ail ou au piment, à la menthe ou parfumé aux fruits n'est pas impensable.

A ce sujet, de Yougoslavie (17) nous viennent d'intéressants exemples quant aux possibilités d'utilisation des excédents de lait écrémé en poudre et de fromage fondu fournis au titre de l'alimentation scolaire. Dans ce pays, la population consomme très peu de fruits et de légumes et l'on s'efforce actuellement de porter remède à cette situation. Des formules ont été élaborées pour la préparation de lait et de yaourts aromatisés aux fruits. Le fromage fondu, ainsi qu'un fromage blanc à pâte molle préparé à partir de lait écrémé en poudre, est mélangé à des légumes frais hachés - notamment carottes et épinards - et cette pâte, additionnée des assaisonnements traditionnels, est étalée en couches minces sur des tranches de pain. On obtient ainsi un casse-croûte scolaire coloré et appétissant qui, de surcroît, constitue pour les enfants une bonne leçon de nutrition.

Déjà le fromage maigre séché, de par la façon dont il a été fabriqué, ne présente pas d'odeur particulière qui pourrait le réfuter aux yeux des consommateurs. Cependant l'introduction d'un arôme de plante ou de fruit dans sa fabrication ne ferait qu'augmenter son acceptabilité.

CHAPITRE III

VALEUR ALIMENTAIRE DU FROMAGE MAIGRE SECHE

I. Introduction

Si notre attention a été attirée vers le lait écrémé, c'est bien parce qu'il constitue un sous-produit des beurrieres assez intéressant sur le plan alimentaire. En effet, d'après POURIAU et coll. (1) sauf pour la matière grasse, la composition du lait écrémé est assez semblable à celle du lait complet. cependant, la force centrifuge a modifié la teneur en lécithine dont la presque totalité a été entraînée avec la crème. Ainsi, il cite la composition du lait écrémé comme suit :

	<u>d'après A. Rolet</u>	<u>d'après Bordas et Rackovsky</u>
Extrait sec	9,85	10,23
Matière grasse	0,12	0,09
Lactose	5,03	5,28
Sels	0,76	0,72
Caséine	3,94	3,24

A première vue, les principes nutritifs du lait écrémé sont transmis au fromage qui en est issu, exception faite du lactose entraîné presque entièrement pendant l'opération de l'égouttage et du pourcentage de matière grasse sur lequel on peut jouer à volonté. Pour justifier ce point de vue et pour mieux nous rendre compte de la valeur alimentaire des fromages fabriqués, nous avons procédé à deux séries d'expériences :

- la première série s'est déroulée à l'I.B.A.N.A. (*) sous la direction de Monsieur le Professeur BARON. Elle a consisté à déterminer la valeur biologique des fromages maigres comparativement à celle du lait écrémé en poudre et celle d'une farine de poisson (**).

(*) - Institut de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation.

(**) - Cette farine de poisson nous a été livrée par l'INRA. Il s'agit de la farine de poisson de Norvège A 1206 dont la composition sera donnée par la suite.

- la deuxième série d'expériences s'est déroulée au laboratoire de Nutrition du CNRS à Bellevue, sous la direction de Monsieur le Professeur ADRIAN. Là nous avons pu analyser et doser quatre acides aminés indispensables, respectivement dans le fromage maigre, dans du lait écrémé en poudre et dans une caséine industrielle: ensuite nous avons pu doser deux vitamines du groupe B à savoir la vitamine B2 et la vitamine P P.

Nous allons, par conséquent, examiner dans le détail ces deux séries d'expériences.

II. Méthode d'évaluation de la valeur nutritive du fromage maigre séché comparativement à celle du lait écrémé en poudre et celle d'une farine de poisson.

A. Choix de la méthode

Selon que l'on s'intéresse aux variations du poids vif, aux entrées et sorties de l'azote ou à la composition des tissus corporels, nous avons trois méthodes :

- méthode des poids
- méthode des bilans
- méthode d'analyse des tissus et humeurs.

1. Méthode des poids

La première idée qui vient à l'esprit pour juger de l'efficacité d'un aliment, est de surveiller l'évolution du poids de l'individu qui l'ingère. OSBORNE, MENDEL et FERRY (3) définissent ainsi l'efficacité protidique d'un aliment :

$$\text{E.P.} = \frac{\text{Gain de poids (en grammes)}}{\text{Protides ingérés (en grammes)}}$$

C'est ce que l'on appelle de nos jours le coefficient d'efficacité protidique (Protein efficiency ratio).

Certes, cette méthode demande un minimum d'opérations bien que le nombre de sujets soit assez important: mais elle suscite cependant un certain nombre de critiques tant en ce qui concerne le principe en lui-même que les modalités expérimentales. Tout d'abord, font remarquer J. ADRIAN et A. RERAT (2), les résultats obtenus avec un animal adulte en équilibre de poids ne sont pas nécessairement transposables aux jeunes en croissance et inversement.

D'autre part, cette méthode ne permet pas de faire une discrimination entre l'utilisation digestive et l'utilisation métabolique. Mais surtout, comme l'ont constaté, dans des expériences différentes, JACQUOT et ARMAND (4), TREMOLIERES et coll. (5), il peut y avoir dans certains cas bien précis

une rétention azotée sans qu'il y ait pour autant une augmentation du poids vif. Ainsi, notent J. ADRIAN et A. RERAT (2), la validité de cette méthode implique donc la constance de composition de l'organisme.

D'autres critiques viennent s'ajouter en ce qui concerne les modalités expérimentales. Avec cette méthode, en effet, on néglige le rapport des calories protéiques aux calories non protéiques: d'autre part le taux protidique doit être le même sinon aucune comparaison n'est possible.

Finalement cette méthode sert surtout à déterminer le coefficient d'efficacité protidique très commode à établir et, de plus, elle peut être conduite en même temps que les autres méthodes et complète ainsi les renseignements recueillis.

2. Méthode des bilans

Cette méthode est basée sur la transformation même des aliments dont chacun se trouve ainsi affecté d'un coefficient d'utilisation digestive et d'une utilisation métabolique qui nous amène à la notion de valeur biologique.

21. Coefficient d'utilisation digestive

La digestibilité se définit par le coefficient d'utilisation digestive réelle (6) :

$$\text{CUD réel} = \frac{\text{N ingéré} - (\text{N fécal total} - \text{N fécal métabolique})}{\text{N ingéré}} \times 100$$

Pour déterminer l'azote fécal métabolique ou azote endogène, on emploie parfois un régime ternaire ou protéoprive: il s'agit d'un régime glucidique dont un exemple nous est donné par le tableau suivant (7) :

Pour 1 kg. de régime

mélange salin (*)	
(avec calcium)	40 g.
Agar-agar	20 g.
Saccharose	320 g.
Amidon de froment	500 g.
H2O distillée	490 g.

et après cuisson et refroidissement de ce mélange, on ajoute :

Huile d'arachide enrichie en
huile de foie de morue à 1 % : 120 g.

Mélange vitaminique hydrosoluble (**) : 10 ml.

(*)- nous verrons plus loin la composition de ce mélange.

(**)- ce mélange est préparé de façon à apporter les quantités convenables de vitamines dans 10 ml. de solution pour 1 kg. de régime sec.

Cependant certains chercheurs tels que BOSSHARDT et BARNES (65) considèrent que le régime protéiprive ne permet pas l'estimation de l'azote fécal métabolique d'après l'azote des fèces des animaux nourris avec ce régime.

En outre, les travaux de SWANSON et coll. (66) ont permis de constater que l'élimination de l'azote par l'urine et les fèces était plus élevée avec un régime protéiprive qu'avec un régime à 3,5 % de protides d'oeuf.

MITCHELL (8) adapte un taux de 4 % d'oeuf dans le régime ternaire; ainsi le coefficient d'utilisation digestive réel est donné par la formule :

$$C U D R = \frac{I (A) - [F (A) - F (B)]}{I (A)}$$

où A correspond au régime de la protéine expérimentée
B correspond au régime à 4 % d'oeuf.

22. Valeur biologique

D'après MITCHELL (67) nous avons :

N fécal exogène = N fécal du régime expérimental (F) -
N de la dépense endogène (Fm)
N urinaire exogène = N urinaire du régime expérimental (U) -
N de la dépense endogène (Um)

d'où :

$$V.B = \frac{I - (F - Fm) - (U - Um)}{I - (F - Fm)} \times 100$$

où I représente l'azote ingéré.

Toujours d'après MITCHELL, quand on étudie plusieurs protides à la fois, il est nécessaire de contrôler les ingérés par la méthode de Pair Feeding et nous avons alors :

$$V.B = \frac{I - [(F - Fm) + (U - Um)]}{I - (F - Fm)} \times 100$$

où I représente l'azote ingéré

F représente l'azote fécal

U représente l'azote urinaire

Fm et Um correspondant à la période à 4 % d'oeuf.

Les animaux sont d'abord soumis pendant une semaine environ au régime contenant 4 % d'oeuf pour la détermination de l'azote endogène; puis ils sont partagés en autant de groupes homogènes qu'il y a de protides à étudier; ils sont alors soumis à un régime contenant 10 à 11 % de protides. On essaie de faire de telle sorte que chaque animal ingère la même quantité d'azote que les autres, mais sur le plan pratique

c'est très difficile à réaliser étant donné l'unité physiologique propre de chaque animal. Ceci d'une part, d'autre part le taux de 10 à 11 % n'est que conventionnel et ne correspond en rien aux réalités quotidiennes. De plus, cette méthode nécessite un nombre important de dosages ce qui restreint le nombre d'animaux.

Nonobstant les critiques qu'on formule à l'égard de cette méthode, il reste qu'elle donne des renseignements assez intéressants sur le destin de l'aliment à tester, et, combinée avec la méthode des poids vifs, elle peut nous fournir une base assez valable pour l'étude de tel ou tel aliment. Toujours est-il qu'à l'heure actuelle, c'est l'une des méthodes les plus employées pour les études de ce genre. C'est la raison pour laquelle nous l'avons adoptée pour nos travaux.

3. Méthode d'analyse des tissus et humeurs.

Elle consiste à diviser les animaux en groupes de trois à quatre sujets bien homogènes. L'un des groupes est nourri d'une ration protéiprive ou à 4 % d'oeuf; les autres groupes sont nourris chacun à l'aide d'un régime comprenant 10 à 11 % de la (ou les) protéine à étudier. L'expérience dure une dizaine de jours; les animaux sont ensuite sacrifiés et l'azote est analysé par la méthode KJELDAHL, sur le résultat d'une digestion acide de toute la carcasse. On fait ainsi la différence entre l'azote final trouvé chez le premier groupe et chez les autres groupes. Cela permet d'exprimer ce que l'on appelle la valeur nette des protéines dont l'expression est donnée par :

$$V N P = \frac{VB \times D}{100}$$

BENDER et MILLER (9) qui ont étudié cette question, ont proposé une autre méthode en se basant sur le caractère constant du rapport N/H₂O dans l'organisme; Il suffit donc de doser l'humidité des carcasses pour déterminer l'azote du corps. Cette méthode demande peu d'opérations : peu d'animaux donc peu de dosages mais elle pose le problème de l'homogénéité des animaux qui est très difficile à réaliser.

En fait chacune des méthodes que nous avons développées a ses qualités et ses défauts. Pour notre part, nous avons choisi la méthode des bilans dont nous avons déjà vu le principe plus haut et dont nous développons ci-après les modalités expérimentales et les résultats auxquels nous sommes parvenus.

B. Modalités expérimentales pour la détermination de la valeur nutritive du fromage maigre séché

1. Introduction

Le fromage maigre n'a, à notre connaissance, jamais été étudié pour déterminer la valeur nutritive des protides qu'il peut renfermer. C'est peut-être parce que ce genre de fromage n'a fait son apparition qu'à des périodes assez critiques du point de vue économique : pendant les périodes de guerre ou même à la fin du XIX^{ème} siècle, début du XX^{ème}, puisqu'il servait de nourriture dans les fermes pour les ouvriers agricoles par exemple.

D'une façon générale, L. RANDOUIN et J. CAUSERET (11) font remarquer qu'il y a eu peu de travaux consacrés à l'étude de l'utilisation digestive et la valeur biologique des protéines des fromages à travers le monde; de plus, ces différentes études aboutissent à des résultats contradictoires.

Ainsi, d'après BEADLES et coll. (12), la digestibilité des matières azotées du cheddar, du gruyère, du Limbourg et du Roquefort serait du même ordre de grandeur que celle des protéines du lait; quant à la valeur biologique, elle serait inchangée dans le cas du gruyère, mais légèrement abaissée dans celui du Limbourg.

Pour les chercheurs de l'Université de Reading (13), la digestibilité et la valeur biologique des protéines du cheddar, du cheshire et du stilton seraient pratiquement identiques à celles des protéines du lait utilisé pour leur fabrication. Au contraire, d'après MITCHELL (14), les protéines du lait ont une valeur biologique de l'ordre de 90 alors que celles du gruyère n'atteindraient que 73.

Pour notre part, nos recherches ont porté sur le fromage maigre séché que nous avons fabriqué à la Laiterie de Grièges dans le département de l'Ain (France) puis sur du lait écrémé en poudre et une farine de poisson.

Si nous avons adopté la solution du lait écrémé en poudre et celle d'une farine de poisson, c'est d'abord pour nous permettre de comparer les valeurs biologiques et ensuite parce que le lait écrémé en poudre est largement utilisé par les organismes internationaux (OMS - FAO - UNICEF) dans la lutte contre la malnutrition protéique; il en est de même des produits de la mer pour lesquels ces mêmes organismes font un effort pour aider les pays sous-développés, à les extraire et les amener à la table des mal nourris.

Cette comparaison nous a donc semblé utile tout d'abord sur le plan alimentaire et nutritif et ensuite sur le plan économique.

2. Techniques expérimentales

21. Matériel employé

211. Les animaux : Il s'agit de rats blancs de sexe mâle ayant trois semaines d'âge après le sevrage et pesant entre 40 et 50 g.

212. Les cages : Il s'agit de cages dites "à métabolisme". Chaque cage se présente sous la forme d'un parallélépipède terminé à la base par une forme d'entonnoir de façon à permettre l'écoulement des urines et l'évacuation des fèces. Sur l'un des petits côtés de la cage existent deux ouvertures circulaires sur lesquelles s'adapte une plaque métallique portant les mêmes ouvertures et qui peut recevoir deux petits flacons appropriés, l'un contenant de l'eau, l'autre le régime alimentaire; le tout donnant sur l'intérieur de la cage et permettant ainsi au rat de pouvoir manger et boire quand il le désire. L'ensemble de ces éléments est porté par un support métallique renfermant à sa partie supérieure une portière pour pouvoir fermer la cage. Il y a deux cages par support. L'animal, lui, repose au fond de la cage sur une plateforme grillagée. Pour pouvoir récolter les urines et les fèces, nous avons placé au-dessous de la forme en entonnoir de la cage un flacon sur lequel nous avons posé un entonnoir. Il faut dire que ce genre de cage n'était pas pratique pour séparer urines et fèces; alors nous avons imaginé un dispositif de grillage fin qui, placé sur l'entonnoir du flacon, permettait aux urines seules de s'écouler. Ainsi nous pouvions récolter plus facilement les crottes dans des boîtes de Pétri (une boîte de Pétri par animal) chaque fois qu'il y en avait sur le grillage.

213. L'animalerie : La salle où se sont déroulées les expériences était climatisée; un radiateur muni d'un thermostat, régulateur de température, fonctionnait pendant toute la durée des expériences et un ventilateur permettait le renouvellement de l'air.

22. Conduite des études métaboliques. Elles ont été menées en deux

stades :

221. Période à faible pourcentage d'azote : Pour la détermination de l'azote endogène éliminé par voies fécale et urinaire, 34 jeunes rats blancs de sexe mâle, pesant de 40 à 50 g. et ayant 4 semaines d'âge, soit une semaine après le sevrage, ont été soumis à un régime à 4 % d'oeuf. Cette période a duré 7 jours, mais le contrôle des quantités ingérées et la récolte des fèces et des urines n'ont commencé que le troisième jour, ce qui fait que les études métaboliques proprement dites ont été faites pendant 5 jours.

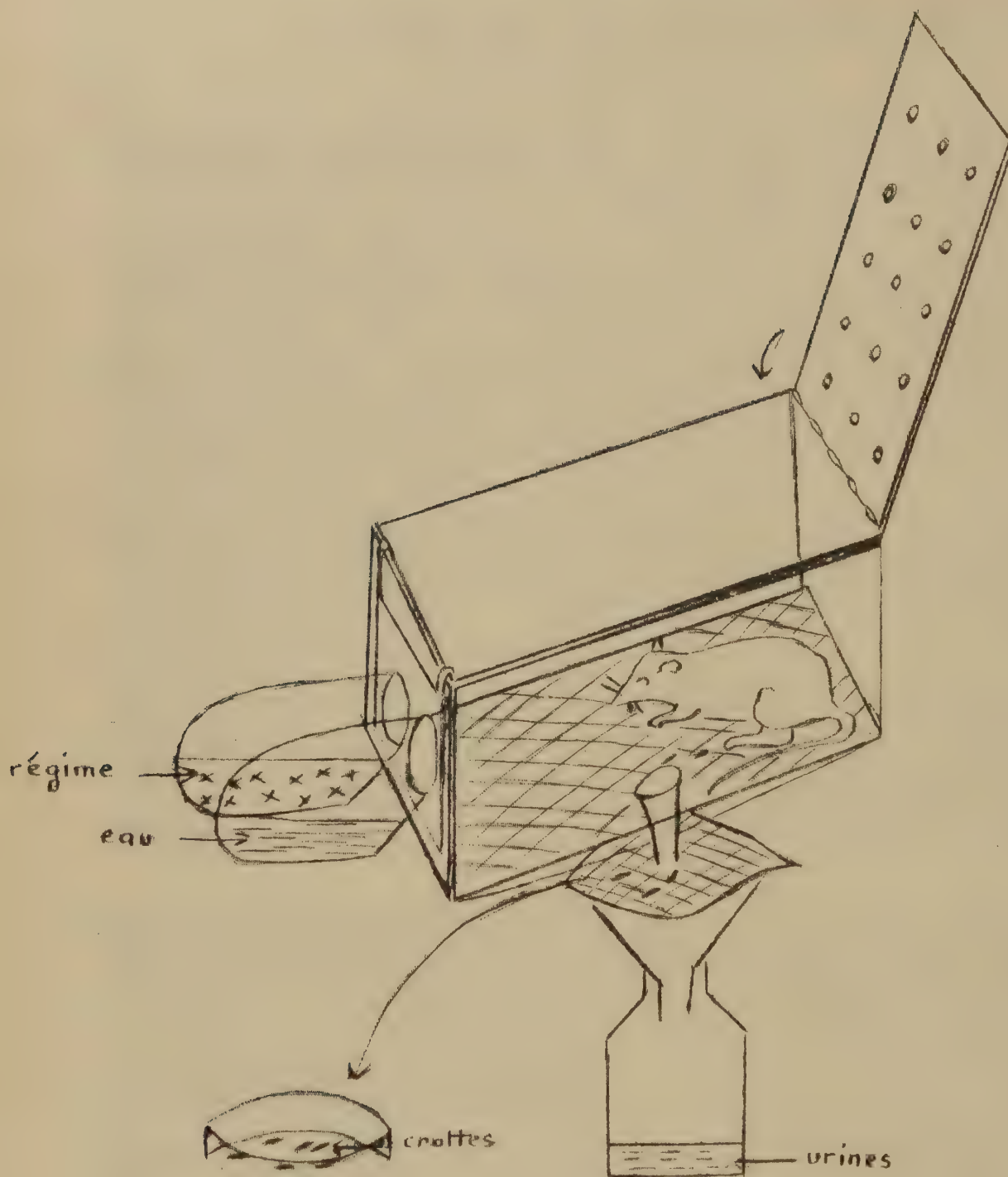


Fig. 1.- Cage métabolique

Cette période nous a permis également de sélectionner les animaux pour la deuxième phase d'expérience et éliminer ainsi tous les animaux gaspilleurs d'aliments ou ceux qui paraissaient malades et ne mangeaient pas.

222. Période à 10 % de protides à tester : Les animaux, pendant cette période, ont été répartis en trois lots aussi homogènes que possible; chaque lot, au départ, renfermait neuf sujets, mais, au cours de l'expérience trois rats ont péri pour des raisons indéterminées.

Le premier lot de 9 sujets recevait un régime dont la source d'azote provenait d'une farine de poisson.

Le deuxième lot de 7 sujets avait un régime dont la source protéique provenait du fromage maigre séché.

Le troisième lot de 8 sujets recevait une alimentation dont la source azotée provenait du lait écrémé en poudre.

Le taux protidique dans ces régimes était d'environ 10 à 11 %.

Cette seconde période a duré 14 jours mais c'est seulement le 7ème jour que nous avons commencé à contrôler les quantités ingérées par animal et à récolter fèces et urines; ceci pour permettre aux animaux de pouvoir rattraper le retard de croissance qu'ils ont dû avoir pendant la période à faible pourcentage d'azote.

23. Régimes alimentaires

Le régime à 4 % environ de poudre d'oeuf a été préparé de la façon suivante :

Pour 1 kg. de régime, on a mélangé :

Agar-agar	20 g.
Mélange salin complet	40 g.
Poudre d'oeuf	80 g.
Sacharose	270 g.
Amidon	500 g.
Eau distillée	490 g.
Huile d'arachide	90 g.

On incorpore au fur et à mesure les produits de façon à obtenir un mélange bien homogène à la fin de l'opération.

On fait chauffer ce mélange jusqu'à obtenir une bouillie ni trop liquide, ni trop épaisse et après refroidissement on ajoute 1 ml. de solution vitaminée.

Pour cette solution vitaminée, nous n'avons pas pu préparer le mélange adéquat des différentes vitamines vu les délais assez longs que demandait leur commande; alors nous avons résolu le problème en utilisant l'hydrosol polyvita-miné "Roche" dont la composition est la suivante :

Vitamine A (Axeophthol)	2.500 U.I.
Vitamine B1 (Thiamine)	1 mg.
Vitamine B2 (Riboflavine)	0 mg.75
Vitamine B6 (Pyridoxine)	1 mg.
Vitamine PP (Nicotinamide)	5 mg.
Vitamine C (Acide L. ascorbique)	25 mg.
Vitamine D2 (Calciférol)	500 U.I.
Vitamine E (Acétate de D.L. Tocophérol)	1 mg.
Panthénol	2 mg.

Nous donnons ci-dessous les mélanges employés dans ce genre d'études par certains chercheurs (7), (18 bis).

D'après CAUSERET (18 bis)

Thiamine	2 mg. par kg. de régime
Riboflavine	3 mg. par kg. de régime
Amide Nicotinique PP	50 mg. par kg. de régime
Pyridoxine	2,5mg. par kg. de régime
Pantothénate de calcium	10 mg. par kg. de régime

Cette formule a été améliorée pour aboutir à la composition suivante (7) :

Par kg. de régime
dans 10 ml., soit
10 cm³ du mélange

Vitamine A hydrosoluble 100.000 U.I./ml. (Roche)	2.000 U.I.
Vitamine D2 solution alcoolique (Ronsol) 1 amp. = 1,5 ml. = 15 mg.	500 U.I.
Vitamine E acétate de DL α tocophérol	15 mg.
Vitamine K1 hydrosoluble (gouttes) (Roche)	1 mg.
Thiamine Chlorhydrate (Roche)	4 mg.
Riboflavine (Roche)	4 mg.
Pyridoxine chlorhydrate (Roche)	4 mg.
Amide nicotinique (Roche)	50 mg.
D (+) Pantothénate de calcium	10 mg.
Choline	500 mg.
Inositol	200 mg.
Acide folique	1 mg.
Acide para-aminobenzoïque (Prolabo)	500 mg.
D. Brotine (Roche)	0,2 mg.
Vitamine B 12 (OH. Roussel)	0,03 mg.

Comme boisson, les animaux ont reçu de l'eau distillée.

En ce qui concerne le mélange salin, il s'agit de celui de HUBBEL, MENDEL et WAKEMAN (15) dont la composition est la suivante (*):

Carbonate de calcium	543 g.	par kg. de mélange
Phosphate monopotassique	212 g.	"
Chlorure de potassium	112 g.	"
Chlorure de sodium	69 g.	"
Carbonate de magnésium	25 g.	"
Phosphate ferreux	20 g.,5	"
Sulfate de magnésium	16 g.	"
Fluorure de sodium	1 g.	"
Sulfate de cuivre cristallisé	0 g.,9	"
Sulfate de manganèse	0 g.,35	"
Alun de potassium	0 g.,17	"
Iodure de potassium	0 g.,08	"

Quant aux régimes protidiques à 10 % ils ont été préparés comme suit :

231. Fromage comme source de protides :

Agar-agar	20 g.	pour 1 kg. de régime
Mélange salin	40 g.	"
Fromage	200 g.	"
Saccharose	270 g.	"
Amidon	480 g.	"
H2O distillée	500 g.	"
Huile d'arachide	90 g.	"

Après cuisson et refroidissement, on ajoute 1 ml. de la solution vitaminée "Roche".

232. Lait écrémé en poudre comme source de protides :

Agar-agar	20 g.	pour 1 kg. de régime
Mélange salin	40 g.	"
Lait écrémé en poudre	278 g.	"
Saccharose	270 g.	"
Amidon	480 g.	"
H2O distillée	500 g.	"
Huile d'arachide	90 g.	"

Après cuisson et refroidissement de ce mélange, on ajoute 1 ml. de la solution vitaminée "Roche".

./.

(*) - Nous verrons en annexe le mode de préparation de ce mélange tel que nous l'avons appris au C.N.R.Z. Jouy en Josas.

233. La farine de poisson commesource de protides :

Agar-agar	20 g.	pour 1 kg. de régime
Mélange salin	40 g.	"
Farine de poisson	140 g.	"
Amidon	480 g.	"
Saccharose	270 g.	"
H ₂ O distillée	500 g.	"
Huile d'arachide	90 g.	"

Après cuisson et refroidissement de ce mélange, on ajoute :
1 ml. de la solution vitaminée "Roche".

Les quantités de lait écrémé en poudre, celles du fromage maigre séché et celles de la farine de poisson utilisée ont été calculées de telle sorte que les régimes renfermaient un même taux protéique soit 10 à 11 %.

Ces régimes ont été donnés aux animaux sous forme de bouillies. De plus, comme pour le régime à 4 % d'oeuf, les animaux ont reçu pour boisson de l'eau distillée.

24. Caractéristiques du lait écrémé en poudre, du fromage maigre séché et de la farine de poisson utilisés pour la conduite des expériences.

Le lait écrémé en poudre utilisé a été séché par pulvérisations; le lait préalablement concentré et atomisé sous forme de brouillard dans un courant d'air chaud. Ce procédé, d'après HENRY et coll. (16) et S.K. KON (17) conserve au lait tous ses précieux principes nutritifs et ne modifie pas la valeur biologique de ses protéines.

Il renferme environ 36 % de protides et 1 à 2 % de matière grasse. Quant au fromage maigre séché, il s'agissait bien sûr de celui fabriqué par nos soins; il renfermait 49 % de protides et dosait 67,84 % de matière sèche. Ce fromage est réduit en poudre fine avant utilisation dans les régimes.

Quant à la farine de poisson, il s'agit de celle de Norvège A 1206 qui a les caractéristiques suivantes :

Humidité	7,4
Matière sèche	92,6
Matières minérales	15,3
Matière azotée (Nx6,25)	72,0
Matière grasse	5,6
Phosphore	2,1
Calcium	3,1
Chlorure de sodium	3,2

Les régimes étaient préparés pour une durée de deux ou trois jours et conservés à basse température.

25. Méthodes de détermination des ingesta et des excreta.

Avec le dispositif déjà décrit et schématisé sur la fig. 1, nous pouvons récolter urines et fèces mais, comme nous l'avions déjà dit, il fallait enlever les crottes et les mettre dans la boîte de Pétri correspondante au fur et à mesure qu'elles tombaient sur la feuille grillagée qui les empêchait de se mélanger aux urines.

Signalons que J. CAUSERET (18 bis) utilise un dispositif beaucoup plus astucieux et pratique pour la séparation des excreta : la cage - simple panier en fil de fer circulaire, du genre de ceux employés pour contenir des tubes à essai - est munie de deux mangeoires extérieures comme celles adaptées à notre système; elle est placée sur un entonnoir dont le diamètre dépasse légèrement celui de la cage, de façon à pouvoir recueillir les urines et les fèces de l'animal placé à l'intérieur. Sur la tige de l'entonnoir, préalablement sectionnée à quelques cm. du sommet, est suspendue une poire en verre dont le diamètre maximum est légèrement supérieur à celui de la tige de l'entonnoir. La pointe de cette poire sur laquelle suinte l'urine est dirigée vers le bas et aboutit à un flacon qui recueille ainsi les urines; ce flacon est lui-même placé dans un verre à précipitation qui, lui, reçoit les crottes qui sont projetées par la partie bombée de la poire.

Notons qu'il faut prendre soin de mettre au fond des flacons qui recueillent les urines un peu d'acide acétique permettant ainsi la conservation des urines pendant toute la durée des expériences.

Pour déterminer les quantités d'azote ingérées par chaque animal, il faut peser quotidiennement le flacon du régime correspondant avant de le présenter à l'animal; 24 heures après, il faut le repeser pour déterminer par différence avec le poids de la veille, la quantité de nourriture consommée et ainsi de suite jusqu'à la fin des expériences. Ensuite, il faut doser l'azote sur les échantillons des régimes prélevés après préparation de ces derniers.

Pour la détermination des quantités d'azote excrétées, on analyse :

- les fèces qui sont séchées à l'étuve à 100°, pesées et finement moulues,
- les urines dont le volume est déterminé après leur avoir ajouté les eaux de rinçage des éléments expérimentaux; l'eau employée pour le rinçage est de l'eau distillée bouillante.

Les dosages d'azote ont été exécutés selon la méthode Kjeldahl après minéralisation de l'échantillon par de l'acide sulfurique concentré.

3. Résultats obtenus

Tout au long de l'expérience, nous avons constaté une certaine homogénéité dans la consommation des différents régimes.

Ainsi nous avons pu définir :

31. Le coefficient d'utilisation digestive (C.U.D.)

Il a été calculé selon la formule de MITCHELL (8) :

$$\text{C.U.D. réel} = \frac{I(A) - [F(A) - F(B)]}{I(A)}$$

où A correspond au régime de la protéine expérimentée
B " " " à environ 4 % d'oeuf.

32. Valeur biologique

Nous avons également fait appel à la formule conseillée par MITCHELL quand il s'agit d'étudier des protéines d'origine différente, ce qui était bien notre cas :

$$V.B = \frac{I - [(F - F_m) + (U - U_m)]}{I - (F - F_m)}$$

où I représente l'azote ingéré

F " " fécal

U " " urinaire

F_m et U_m correspondant à la période d'environ 4 % d'oeuf.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau V.

4. Discussion des résultats.

41. Coefficient d'utilisation digestive.

Comme le montre le tableau V, le coefficient d'utilisation digestive des protéines du fromage maigre séché est légèrement supérieur à celui des protéines provenant du lait écrémé en poudre et nettement significatif par rapport à celui des protéines de la farine de poisson utilisée au cours des expériences. Ainsi, la moyenne du C.U.D. passe de 82,9 pour le fromage à 82,7 pour le lait pour descendre à 76,1 dans le cas du poisson. En ce qui concerne la supériorité du coefficient d'utilisation digestive dans le cas du fromage par rapport à celui du lait écrémé en poudre, notre étude ne fait que confirmer le résultat auquel sont arrivés L. RANDOUIN et coll. (19).

TABLEAU V - RESULTATS EXPERIMENTAUX

Régimes et Rats	N ingéré		N fécal		N urinaire		C.U.D.	V.B.
	Période à	Période à	Période à	Période à	Période à	Période à		
	4% oeuf	10% Prot.	4% oeuf	10% Prot.	4% oeuf	10% Prot.		
	mg.	mg.	mg.	mg.	mg.	mg.		
I. Poisson								
5	228,29	1153,90	100,57	366,07	7,92	126,99	77,0	86,6
7	239,63	1355,07	114,82	396,93	9,02	181,94	79,2	83,9
9	202,35	1213,36	70,75	360,76	9,33	133,90	76,1	86,5
14	206,34	1277,65	61,60	393,18	12,22	123,18	74,0	88,3
17	216,20	1203,12	105,80	381,15	8,23	165,16	77,1	83,0
20	253,46	1459,45	119,83	447,58	5,45	173,22	77,5	85,2
21	219,83	1446,52	60,13	418,23	8,9	190,00	75,2	83,4
24	197,89	1357,68	77,21	346,47	8,59	202,86	80,2	73,0
29	161,51	1096,62	43,60	326,49	12,81	157,03	74,2	82,3
moyennes							76,7 ₊₁	83,5 _{+1,9}
II. Fromage								
4	247,58	1392,77	76,57	367,0	10,03	384,42	79,1	66,0
10	176,90	812,14	83,50	188,74	12,55	179,27	87,1	76,4
19	202,57	1133,28	60,14	300,75	12,73	214,29	78,8	77,4
23	323,74	996,62	66,80	241,22	16,18	218,01	82,5	75,5
32	191,75	1363,08	115,81	319,52	9,23	210,41	85,0	82,6
33	245,27	1184,44	80,16	268,18	10,54	251,32	84,1	75,8
34	230,19	1124,60	91,48	268,25	9,18	213,92	84,3	78,4
moyennes							82,9 _{+1,9}	76,0 _{+2,0}
III. Lait								
6	190,26	830,29	38,96	273,11	6,36	95,06	71,8	85,1
8	203,82	896,47	71,82	253,29	7,91	91,37	79,7	88,3
11	246,01	972,07	116,80	245,19	6,83	90,55	91,0	90,0
18	211,27	1234,48	116,38	277,31	20,02	245,51	85,3	79,0
25	229,96	1020,96	65,11	220,43	8,82	133,52	84,8	85,6
26	177,85	1126,99	86,15	233,71	8,39	137,81	86,9	86,8
30	137,38	916,98	48,68	239,83	10,94	80,35	79,1	90,4
31	212,36	1166,78	95,36	295,38	9,19	153,35	82,8	85,0
moyennes							82,7 _{+1,9}	86,2 _{+1,9}

$$E = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

En effet, en examinant le tableau des résultats de ces auteurs, on voit que le C.U.D. va de 90,5 - 91,4 pour le lait pour atteindre 97,7 dans le cas du Cantal par exemple. Il semble, d'après ces auteurs, que l'on puisse mettre cette amélioration de l'utilisation digestive en relation avec la dégradation des protides du caillé au cours de la maturation des fromages. Or, dans notre cas précis, nous avons veillé à ne laisser se développer aucune souche microbienne interne ou en surface dans notre fromage afin de lui conférer précisément un pouvoir de conservation de longue durée et c'est la raison pour laquelle - du moins, nous le pensons, la valeur trouvée pour le C.U.D. du fromage maigre séché n'est que très légèrement supérieure à celle du C.U.D. trouvée pour le lait écrémé en poudre.

Quant au C.U.D. relatif à la farine de poisson, il varie dans un large intervalle, selon des critères tenant à l'espèce animale dont la farine de poisson est issue, au mode de préparation et de conservation de cette dernière.

42. Valeur biologique

Toujours d'après le tableau V, nous avons pour le lait une valeur biologique moyenne de l'ordre de 86,2; pour le poisson elle est de l'ordre de 83,5 et pour le fromage maigre elle descend à 76,0.

En traduisant ces valeurs absolues en valeurs relatives nous avons le tableau suivant :

	valeur absolue	erreur standard*	valeur relative
lait écrémé en poudre	86,2	1,9	100
Farine de poisson	83,5	1,9	96,8
Fromage maigre séché	76,0	2	88,1

$$* \quad \bar{x} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n (n - 1)}}$$

Les valeurs biologiques du lait écrémé en poudre et de la farine de poisson se justifient puisque le lait aussi bien que le poisson sont reconnus pour être des aliments à haute valeur nutritive. Dans l'étude déjà citée (19), L. RANDOUIN et coll. trouvent une valeur biologique moyenne pour le lait écrémé en poudre de l'ordre de 89,9 et 87,6 respectivement chez deux lots d'animaux. Pour le lait entier, les mêmes auteurs (20) trouvent une valeur biologique moyenne de l'ordre de 84,0.

En ce qui concerne la farine de poisson, la valeur biologique, tout comme le coefficient d'utilisation digestive d'ailleurs, varie selon l'espèce animale dont la farine est issue et aussi selon le traitement subi.

D'autre part, selon RAND (21), la qualité protéique des farines de poisson préparées avec des déchets est inférieure à celle des farines préparées avec des poissons entiers. C'est ainsi qu'il a étudié un certain nombre de farines de poisson provenant du commerce; il est arrivé aux conclusions résumées dans le tableau suivant :

<u>Qualité des protéines</u>	<u>Nombre de farines</u>	<u>Pourcentage</u>
Excellente	5	7
Très bonne	8	11
Bonne	18	26
Moyenne	19	27
Assez médiocre	9	13
Médiocre	7	10
Mauvaise	4	6

Quant à la valeur biologique du fromage maigre séché, elle nécessite une remarque assez intéressante.

Certes, comme l'ont déjà fait remarquer MITCHELL (14) et surtout L. RANDOUIN et coll. (19), la valeur biologique des fromages est toujours inférieure à celle du lait dont ils sont issus. C'est peut-être dû à l'élimination des protéines solubles au cours de l'égouttage du caillé; il s'agit principalement de la lactalbumine et de lactoglobuline.

En effet, LEWIS (22), OSBORNE et coll. (23) ont constaté chez le rat et chez le chien que la lactalbumine était d'une efficacité bien supérieure à celle de la caséine aux niveaux de l'entretien et de la croissance. C'est peut-être dû aussi à l'action des microorganismes sur les acides aminés des fromages ou à leur nouvel équilibre vitaminique et minéral.

Pour essayer de déterminer la raison de cet abaissement de la valeur biologique des protéines du lait par la coagulation, CAUSERET et coll. (24), (25), ont cherché à comparer la valeur biologique du lait respectivement avec celles du phosphocaséinate de calcium, du paracaséinate de calcium et de la caséine acide, puis avec celle de la caséine et deux échantillons de caséine lactique; mais ces expériences ne leur permirent pas de dévoiler les raisons de cet abaissement de la valeur biologique des protéines du lait consécutif à la coagulation de ce dernier, soit sous l'action de la présure, d'un acide ou de ferments lactiques.

Toujours est-il que la comparaison des résultats auxquels sont arrivés L. RANDOUIN et coll. (19) avec ceux que nous avons trouvés est à la faveur du fromage maigre séché. En effet, ces auteurs ont trouvé comme valeurs biologiques moyennes de différents fromages une échelle qui va de 39,8 pour le Cantal à 81,1 pour le Gruyère, par exemple; pour notre part les expériences ont abouti à une valeur biologique moyenne de 76,0 pour le fromage maigre séché ce qui ne manque pas d'intérêt.

5. Conclusion

Dans cette étude, notre but était de comparer la valeur alimentaire du fromage maigre séché à celle du lait écrémé en poudre d'un usage très courant pour la lutte contre la malnutrition et à celle d'une farine de poisson dont l'utilisation, d'une façon générale, était axée jusqu'à présent sur l'alimentation du bétail; mais, étant donné la haute valeur nutritive que possèdent les farines de poisson, on fait des efforts pour développer leur introduction et leur consommation au sein des populations mal nourries.

En ce qui concerne le lait écrémé en poudre et la farine de poisson, les résultats obtenus correspondent, en général, à ceux déjà trouvés par d'autres chercheurs; mais le fait est nouveau pour ce qui est du fromage maigre séché : 76,0 comme moyenne de valeur biologique et 82,9 comme moyenne du coefficient d'utilisation digestive. De tels résultats nous ont conduit, pour les expliquer, à envisager de faire :

- le dosage de certains acides aminés indispensables,
- le dosage de certaines vitamines du groupe B,
- la détermination du pourcentage des cendres et la proportion du calcium dans les cendres et par suite dans le fromage,
- une étude sur une éventuelle action de la concentration de présure sur la valeur nutritive du fromage.

III. Dosage par voie microbiologique des acides aminés dans le fromage maigre séché - Etude comparative avec du lait écrémé en poudre et une caséine industrielle.

Si, pour les études sur la valeur biologique et la digestibilité du fromage en général, il existe peu de travaux - souvent contradictoires d'ailleurs - en revanche plusieurs études, principalement dans le monde scientifique anglo-saxon, ont été consacrées aux transformations physico-chimiques de la caséine au cours de la maturation du fromage.

La chromatographie sur papier et sur colonne a fait son apparition dans l'étude des éléments constituant le fromage

depuis que CONSDEN et coll. (26) ont apporté en 1944 des améliorations à la méthode de séparation et d'identification des amino-acides; des feuilles de papier filtre ordinaire faisant office de support inerte ont remplacé la colonne fixe de gel de silice; la formation de complexes colorés avec la ninhydrine permettait d'observer sur le papier la position des amino-acides.

PETERSON et coll. (27),(28) ont réussi à séparer certains acides gras grâce à la chromatographie sur colonne.

MABBIT (29), pour sa part, s'est penché sur le fromage type cheddar et a pu constater et doser un grand nombre d'acides aminés libres.

La chromatographie sur papier a été aussi largement utilisée pour la séparation et le dosage des principes nutritifs du fromage.

Pour notre part, nous avons adopté la méthode de dosage des acides aminés présents dans le fromage maigre séché, par voie microbiologique. Cette méthode, très intéressante en soi, permet d'arriver à des résultats assez proches de la réalité.

A. Généralités sur les dosages des acides aminés par voie microbiologique :

Remarque préliminaire : Ces travaux, ainsi que ceux concernant les vitamines du groupe B (PP et B2) ont été effectués au laboratoire de Nutrition du CNRS à Bellevue (Hauts de Seine). Notre désir était de pouvoir doser tous les acides aminés indispensables et davantage de vitamines du groupe B mais, pour des raisons techniques, nous n'avons pu doser que 4 acides aminés indispensables (lysine, méthionine, cystine et tryptophane) et 2 vitamines du groupe B (riboflavine et niacine).

1. Principes des méthodes de dosage des acides aminés par voie microbiologique:

Il existe des microorganismes, pour la plupart des bacilles, qui, comme les êtres supérieurs, ne peuvent synthétiser les acides aminés au taux nécessaire à leur besoin. Ils doivent donc être présents dans les milieux de culture de ces microorganismes.

De plus, on constate que lorsque, dans le milieu de culture, il manque un acide aminé qu'une souche bactérienne

ne peut synthétiser, le développement de cette souche devient rigoureusement proportionnel à la quantité de cet acide aminé introduit dans le milieu.

De cette constatation est née la méthode de dosage des acides aminés par voie microbiologique : la souche se développe dans un milieu de culture équilibré en ce qui concerne tous les éléments indispensables à savoir tous les acides aminés indispensables et banaux (sauf celui qu'on veut doser), sels minéraux, vitamines, etc....

2. Les moyens mis en oeuvre pour la conduite de tels dosages.

21. Les souches

D'une façon générale, à un élément qu'on veut doser correspond une souche bactérienne bien définie; de là, il y a la nécessité de choisir au départ la souche dont la croissance et le développement dépendent de l'élément à doser.

ADRIAN (30) reproduit la liste des souches les plus utilisées et cataloguées par l'American Type Culture Collection (2029 Street, N W, Washington D C)

Lactobacillus arabinosus 17/5 (n° 8014)
 Leuconostic mesenteroides P 60 (n° 8042)
 Streptococcus faecalis R (n° 8043)

Il nous donne ensuite les conditions dans lesquelles il les emploie et qui sont résumées dans le tableau VI.

Ces microorganismes sont conservés au réfrigérateur sur milieu gélosé; ils doivent être repiqués au moins chaque mois, incubés 24 heures à 37°C et mis au réfrigérateur.

Ils sont repiqués quotidiennement pendant une semaine à quinze jours en milieu liquide avant le dosage; le milieu utilisé par ADRIAN est celui préconisé par JOHNSON et se compose de la façon suivante :

- mélange salin glucosé	1,0 g. pour 100 ml. du milieu
- extrait de levure DIFCO	1,0 g. -
- lait peptonisé DIFCO	1,0 g. -

Ce même mélange additionné de 1,5 g. de gélosé constitue le milieu gélosé.

Signalons que streptococcus faecalis et L. arabinosus sont deux souches homofermentatives :

Une molécule de glucose $\longrightarrow$ une molécule d'acide lactique avec un rendement proche de 100 %.

TABLEAU VI

<u>Acides aminés</u>	<u>Concentration de la solution étalon (g de L acide aminé par cc).</u>	<u>Souche utilisée</u>	<u>Caractéristiques du milieu de base</u>
Arginine	200	Strept. Faecalis	synthétique
-	200	Lactob. arabinosus	id.
Cystine	100	id.	id.
Histidine	100	id.	id.
-	100	Strept. Faecalis	id.
Isoleucine	100	Lact. arabinosus	id.
Leucine	100	id.	id.
Lysine	400	L. mesenteroïdes	synthétique enrichi
-	400	L. arabinosus	synthétique
Méthionine	50	id.	id.
-	50	id.	caséine oxydée
Phénylalanine	100	id.	synthétique
Thréonine	200	id.	id.
Tryptophane	50	id.	id.
-	50	id.	caséine acide
Valine	200	id.	synthétique
-	200	L. mesenteroïdes	id.

Quant au leuconostoc mesenteroïdes, il produit de l'acide lactique, de l'alcool et du CO₂; l'acidité produite dans ce cas est moins élevée que pour les souches homofermentatives.

22. Milieux de base

De nombreux milieux de base ont été proposés et plusieurs d'entre eux permettent de doser plusieurs acides aminés en permutant l'un de ceux-ci (31) (32) (33) mais quel que soit le milieu employé, il comporte d'une façon générale :

221. Une source d'énergie : un sucre; en général on emploie du glucose.

222. Une source d'azote : comprenant :

- * tous les acides aminés banaux
- * tous les acides aminés indispensables, sauf, bien entendu, celui qu'on veut doser. Ce dernier est fourni, d'une part sous forme de solution dont on connaît la concentration ce qui permet de tracer la courbe étalon correspondante, et d'autre part sous forme d'hydrolysat de la substance dans laquelle on veut doser l'acide aminé en question.

223. Une solution de purines
comprenant Adénine, uracile et guanine.

224. Des oligo-éléments, à savoir--
PO4 - Mn - Mg - Fe - Na.

225. Des vitamines, plus particulièrement du groupe B dont certaines sont indispensables, d'autres accessoires. On a constaté que les souches se développent sans aucun apport extérieur de vitamines liposolubles.

226. Une source tampon : agit sur le pH de façon à permettre un bon développement de la souche et par suite l'obtention de résultats satisfaisants, en l'occurrence une courbe meilleure.

Il existe un milieu synthétique valable pour tous les dosages d'acides aminés, mais ce milieu peut, dans certains cas, ne pas convenir pour le dosage de certains acides aminés tels que la lysine ou la méthionine; il arrive aussi que des restrictions d'ordre financier puissent conduire le chercheur à envisager un milieu plus économique. C'est la raison pour laquelle on trouve des milieux propres à certains acides aminés.

D'après ADRIAN, le milieu synthétique courant a la composition suivante :

- solution d'acides aminés banaux	50 ml.
- solutions individuelles d'acides aminés indispensables sauf de l'acide aminé à doser (A, B, C, D, E.... M, N)	25 ml*
- solution de purines	10 ml.
- solution V1 (vitamines stables en milieu acide)	10 ml.
- solution V2 (vitamines stables en milieu neutre)	10 ml.
- mélange salin glucosé	25 g.
- acétate de sodium	10 g.
* pour le tryptophane (M) 100 ml.	

Le mélange salin glucosé ainsi que l'acétate de sodium, sont ajoutés au milieu lorsque celui-ci est presque amené à son volume final, c'est à dire à 1 litre. Ensuite on ajuste le pH à une valeur voisine de la neutralité (6,9 - 7,0) à l'aide du bleu de bromothymol à la touche. Signalons que, pour la cystine, le pH est amené à 6,3.

Le milieu de base ne doit jamais être préparé à l'avance.

Remarques importantes :

a) pour la lysine et dans le cas où le microorganisme est *L. arabinosus*, il faut que les solutions soient fraîches sinon il convient d'ajouter au milieu précédent d'après STEELE et coll. (34) :

- solution V3 (pyridoxal, pyridoxamine)	10 ml.
- cystine	50 ml.
- <i>L. asparagine</i>	250 mg.
- chlorure d'ammonium	1 g.

On ajuste le milieu à 1 litre et le pH aux alentours de 6,9-7,0.

b) pour la méthionine, ADRIAN et RAMACHANDRAN (30) (35) ont remarqué que si le milieu de base synthétique renfermait des acides aminés sous forme racémique, le blanc tend à augmenter considérablement; il convient alors d'utiliser des acides aminés sous forme *L.* RIESEN et coll. (36) suggèrent l'utilisation de la caséine oxydée. Quant à BARTHON WRIGHT (37) il propose l'utilisation d'une peptone oxydée.

Ainsi nous obtenons un milieu économique par rapport au milieu synthétique habituel.

ADRIAN (30) nous donne la composition de ce milieu pour 100 tubes :

- solution d'hydrolysate de caséine oxydée	50 ml.
- solution de purines	10 ml.
- solution V1	10 ml.
- solution V2	10 ml.
- solution de Tryptophane	50 ml.
- solution de Cystine	50 ml.
- mélange salin glucosé	25 g.
- acétate de sodium	10 g.

Le milieu est ajusté à 1 litre et à pH 6,9 - 7,0.

c) milieu pour le dosage du tryptophane : outre le milieu synthétique courant, il existe un milieu très économique pour le dosage du tryptophane. Sa composition est la suivante pour 100 tubes (30) :

- solution d'hydrolysate acide de caséine	50 ml.
- solution de cystine	50 ml.
- solution de purines	10 ml.
- solution V1	10 ml.
- solution V2	10 ml.
- mélange salin glucosé	25 g.
- acétate de Na	10 g.

Le volume est ajusté à 1 litre et à pH 6,9 - 7,0.

23. Extraction des acides aminés

L'hydrolyse des échantillons se fait en milieu chlorhydrique ($\text{ClH } 6\text{N}$) et l'autoclavage dure de 6 à 8 heures à 120° . Cette méthode respecte mieux certains acides aminés puisque l'hydrolyse est moins poussée que dans le cas des méthodes chromatographiques.

Pour le tryptophane, l'hydrolyse se fait plutôt en milieu alcalin (Ba (OH)_2 ou $\text{NaOH } 5\text{N}$); l'autoclavage se fait à 120° pendant 5 à 10 heures (33) (38) (39). Mais dans ce milieu, il se produit une racémisation et par conséquent il faut doubler le résultat obtenu pour avoir la teneur en tryptophane de l'échantillon. Après l'autoclavage, on neutralise l'hydrolysât avec de la soude dans le cas où l'hydrolyse s'est effectuée en milieu chlorhydrique ou, avec de l'acide chlorhydrique si l'hydrolyse s'est effectuée à l'aide de soude caustique.

Après cette neutralisation, on filtre la solution obtenue et on la dilue de telle sorte que sa concentration en acides aminés soit voisine de celle de la solution étalon.

3. Modalités de dosage

Le procédé le plus employé est celui de la technique dite "en tubes".

31. Courbe-étalon et extraits :

Pour la courbe-étalon, on met des quantités croissantes dans une série de tubes :

Le 1er tube ne reçoit que 10 cm³ du milieu de base et sert de témoin de pureté du milieu de base; il donne donc un blanc très faible en général.

Ensuite, dans 10 tubes, on introduit les quantités suivantes de la solution étalon :

0,05 - 0,1 - 0,15 - 0,5 ml.

Et immédiatement après, on ajoute à chacun de ces tubes 10 cm³ du milieu de base.

Autrement dit, dans cette série, le 1er tube a un volume de 10 cm³ et le dernier de 10,5 cm³; on considère que l'on a une marge de 20 % dans laquelle le volume total de la culture est sans effet sur la pousse. On répète certains points : 0,05 - 0,1 - 0,15 - 0,2 - 0,3 - 0,4 de la solution étalon et on ajoute aux tubes correspondants 10 cm³ du milieu de base.

./.

Quant à chacun des extraits à doser, on dispose de 6 tubes dans lesquels on met respectivement : 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,6 - 0,8 ml. de la solution à analyser et immédiatement après, on leur ajoute 10 ml. du milieu de base.

32. Stérilisation

Les tubes ainsi préparés sont recouverts à l'aide d'un couvercle métallique s'adaptant au portoir et autoclavés pendant 10 mn. à 120°C.

Il est bien entendu que tous les tubes, aussi bien ceux concernant la solution étalon que ceux des extraits à analyser, subissent strictement le même traitement tout le long du dosage.

33. Ensemencement

La veille du dosage, on prépare un inoculum; cela consiste à repiquer la souche dans le milieu liquide d'entretien et on laisse séjourner 24 heures à l'étuve. Au moment de l'ensemencement, on prélève 10 à 15 gouttes de l'inoculum que l'on ajoute à 10 cm³ de sérum physiologique. Avec une telle suspension, on ensemence les tubes déjà refroidis à l'aide d'une pipette Pasteur recourbée à angle droit et possédant un renflement qui contient un peu de la suspension. On introduit aseptiquement 1 goutte de la suspension contenant la souche microbienne adéquate en évitant d'en mettre sur les parois du tube. On stérilise l'ensemble en faisant passer la flamme sur les parois du tube et sur le couvercle.

34. Incubation

Elle se fait dans une étuve dont la température est réglée une fois pour toutes entre 30° et 37°C. Il est important que, dans le volume de l'étuve, règne constamment la même température et que les variations de celle-ci ne dépassent pas $\pm 1^\circ\text{C}$.

4. Mesure de la croissance.

Elle se fait de deux manières possibles :

41. Méthode néphélométrique

On retire les tubes après 16 à 24 heures d'incubation. On arrête la croissance soit en passant les tubes à l'autoclave, soit en ajoutant une goutte d'antiseptique à chacun d'eux. On agite les tubes avant de faire les mesures au photomètre.

Cette méthode, dite par néphélométrie, a l'inconvénient de se pratiquer au début de l'incubation et c'est précisément à ce moment que les substances interférentes ont le plus d'effet.

C'est la raison pour laquelle on lui préfère la méthode acidimétrique qui, elle, n'a pas cet inconvénient.

42. Méthode acidimétrique

On laisse incuber de 48 à 72 heures; le développement se fait en deux temps : d'abord il y a une phase de multiplication cellulaire, ensuite une phase de production de déchets du métabolisme bactérien (acide lactique en particulier). On titre l'acidité produite dans les tubes à l'aide d'une solution de soude N/20 ou N/10 avec comme indicateur coloré le bleu de bromothymol. Il n'est pas nécessaire de connaître le titre exact de la soude employée; l'essentiel est que tous les tubes soient titrés avec la même solution de soude ayant une normalité approchant N/10 ou N/20.

5. Calculs

Les résultats obtenus sont traduits à l'aide d'une représentation graphique.

Avec les 17 premiers tubes on trace la courbe étalon en mettant en ordonnées les quantités de NaOH versées pour chacun des tubes et en abscisses les quantités en γ d'acide aminé contenues dans chacun des tubes (Fig. 2).

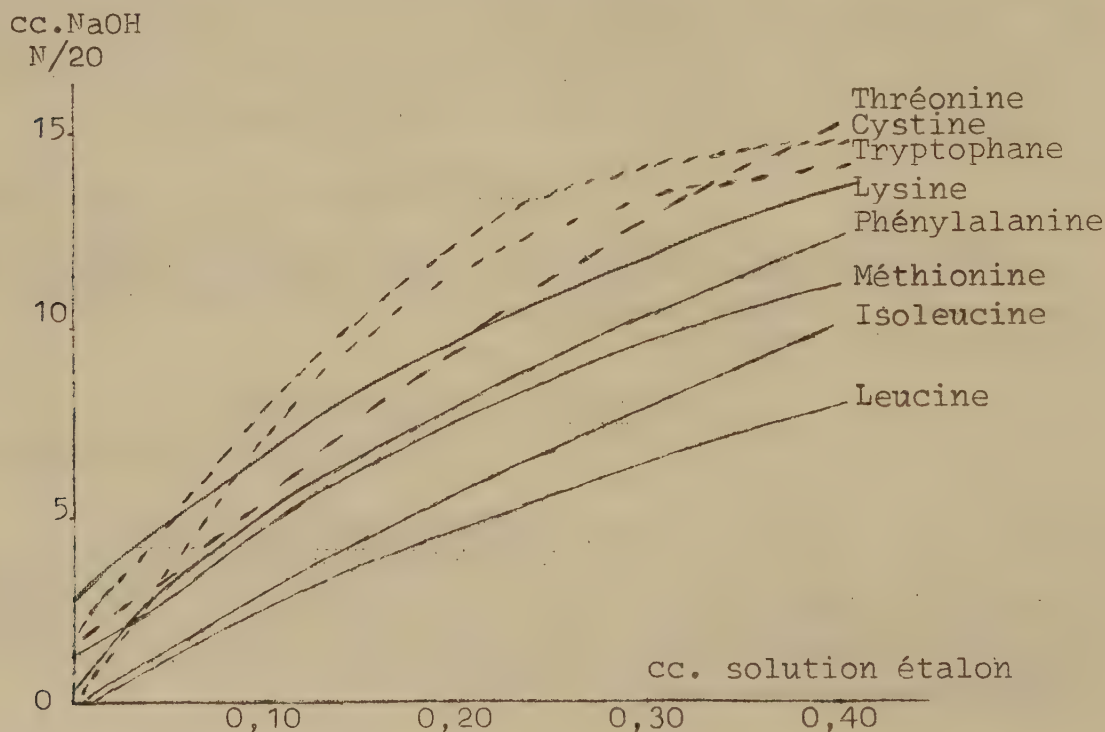


Fig. 2 - Réponse du lactobacillus arabinosus à différents amino acides (42 h. d'incubation) d'après ADRIAN (30)

Pour les tubes contenant l'échantillon à doser, à partir du point représentatif sur l'axe des ordonnées de la quantité de soude versée pour chacun d'eux, on trace la droite parallèle à l'axe des abscisses qui coupe la courbe étalon en un point; la projection de ce point sur l'axe des abscisses nous donne la quantité correspondante d'acides aminés contenue dans le tube. De là, on calcule la teneur en acide aminé par ml. d'extrait et dans le domaine nutritionnel on exprime les teneurs d'acide aminé en pourcentage de la protéine pure.

6. Spécificité des dosages microbiologiques

Plusieurs chercheurs sont d'accord pour affirmer que pendant les dosages microbiologiques, seuls les produits qui présentent une activité biologique pour la souche utilisée réagiront dans la méthode.

En outre, la plupart des chercheurs se sont rendus compte que les formes D des acides aminés étaient inactives dans la méthode des dosages par voie microbiologique.

Le tableau de résultats VII dû à STEELE et coll. (34) nous le confirme.

	leuconostoc mésenteroïdes		leuconostoc citrovorum	
	en % de l'activité de l'isomère L			
	Forme D	L	Forme D	L
Cystine	<50		<50	
Histidine	50		50	
Isoleucine	50		50	
Leucine	50			
Lysine	50			
Méthionine	54	<10	50	0
Phénylalanine	50	0		
Thrénine		0		0
Tryptophane	49			
Valine	50	0	50	0

Tableau VII - Activité des Fromes D et D1 des acides aminés pour des microorganismes se développant dans les conditions microbiologiques.

Ceci d'une part, d'autre part *Lactobacillus arabinosus* possède une spécificité parfaite à l'égard de L. méthionine comme le montre le tableau VIII dû à RIBEN et coll. (36)

En % de l'activité de
L. Méthionine

D L Méthionine	49,5
D Méthionine	0,1
D L homocystine	0,05
" + choline ...	0,03
L Cystine	0,0
L Cystéine	0,0
Glutathion	0,0

Tableau VIII - Activité des isomères des corps biologiquement voisins de la méthionine pour *L. arabinosus* se développant dans les conditions du dosage micro-biologique.

Les microorganismes qu'on emploie donnent donc une réponse aussi bien biologique que spécifique des formes d'acides aminés normalement actives pour les organismes supérieurs et, par suite, les résultats obtenus par voie microbiologique ont certainement une signification beaucoup plus proche de la réalité dans le domaine de la nutrition.

B. Dosage de 4 acides aminés indispensables

1. Préparation des échantillons.

11. Pesées

Nous disposons de 6 tubes d'un diamètre de 3 cm, pour chaque produit :

- pour le lait, l'indexation des tubes allait de L1 à L6
- pour le fromage - - - F1 à F6
- pour la caséine - - - C1 à C6

- * les indices (1 ; 2) étaient réservés à la lysine
- * - (3 ; 4) - - - méthionine et la cystine
- * - (5 ; 6) - - - au tryptophane

Les pesées se sont déroulées selon le tableau IX.

Echan- tillons	Poids en g.	Echan- tillons	Poids en g.	Echan- tillons	Poids en g.
L ₁	1,9953	F ₁	1,9953	C ₁	1,9960
L ₂	1,9958	F ₂	1,9967	C ₂	1,9982
L ₃	1,9975	F ₃	1,9977	C ₃	1,9993
L ₄	2,0038	F ₄	1,9992	C ₄	2,0008
L ₅	2,0001	F ₅	1,9983	C ₅	1,9998
L ₆	1,9921	F ₆	2,0004	C ₆	2,0010

Tableau IX - Poids des différents échantillons utilisés pour le dosage des acides aminés (lysine - méthionine - cystine -tryptophane)

12. Hydrolyse

Elle s'effectue soit en milieu acide, soit en milieu basique selon l'acide aminé auquel on a affaire :

- pour la lysine, nous avons ajouté dans chacun des tubes (1 ; 2) 25 cc d'acide chlorhydrique 6 N
- pour la méthionine et la cystine (acides aminés soufrés) nous avons ajouté dans chacun des tubes (3 ; 4) 25 cc d'acide chlorhydrique 2 N
- pour le tryptophane, nous avons ajouté dans chacun des tubes (5 ; 6) 25 cc de soude caustique 5 N.

13. Autoclavage

Nous avons autoclavé l'ensemble des tubes à 120° C pendant une durée de 8 heures - le temps d'autoclavage est situé entre une durée minimum de 6 heures et une durée maximum de 10 heures.

14. Neutralisation et dilution

Le pH est ramené, pour le contenu de chacun des tubes, au voisinage de la neutralité en versant une quantité d'acide ou de base équivalente à celle employée pour l'hydrolyse.

Pour la série des tubes (1 ; 2) et (3 ; 4) la neutralisation s'est effectuée grâce à l'addition de NaOH ; pour les tubes de la série (5 ; 6) nous avons employé ClH pour la neutralisation.

Les additions de NaOH ou de ClH, selon les cas, étaient opérées par petites quantités pour permettre de vérifier l'évolution du pH ; cette évolution était contrôlée grâce au système dit "à la touche" avec comme indicateur coloré le bleu de bromothymol.

15. Dilution et filtration

Nous avons considéré qu'1 g. de protéine pure contient approximativement :

8 % de lysine 3 % de méthionine
0,5 % de cystine 0,75 % de tryptophane

Autrement dit, dans un gramme de lait en poudre contenant 36 % de protéines, nous avons approximativement :

- 30 mg de lysine
- 10 mg de méthionine
- 2 mg de cystine
- 3 mg de tryptophane

En outre, les solutions-étalon, permettant d'établir les courbes correspondantes pour les différents acides aminés, ont les concentrations suivantes :

400 γ	par ml pour la solution	lysine
50 γ	" " "	méthionine
50 γ	" " "	cystine
25 γ	" " "	tryptophane

Ainsi nous avons pu déterminer les différentes dilutions pour les échantillons de lait (1 ; 2) soit :

150 ml pour les échantillons de lait destinés au dosage de la lysine (1 ; 2)
400 ml pour les échantillons destinés au dosage de la méthionine (3 ; 4)
100 ml pour les échantillons destinés au dosage de la cystine (3 ; 4)
300 ml pour les échantillons destinés au dosage du tryptophane (5 ; 6)

Dans le cas du fromage et de la caséine, nous avons doublé ces dilutions : le tableau X résume toutes ces opérations.

Echantillons Acides Aminés	Lait	Fromage Caseine	Concentration des solutions etalon
	dilutions		
Lysine	150 ml	300 ml	400 ✓
Cystine *	100 " *	200 " *	50 ✓
Méthionine *	400 " *	800 " *	50 ✓
Tryptophane	300 " *	600 " *	25 ✓

* Pour les acides aminés soufrés on dilue d'abord l'hydrolysât à 100 ml pour la cystine et après filtration, on prend 10 ml du filtrat obtenu dans un tube et on complète à 40 ml avec de l'eau bi-distillée. Ainsi on a eu une série de tubes L'3 , L'4 , F'3 , F'4 , C'3 , C'4.

Ces hydrolisats ainsi dilués et filtrés sont conservés au froid jusqu'au moment de leur utilisation.

16. Préparation des milieux de base.

Tous les milieux de base que nous avons utilisés successivement étaient des milieux synthétiques DIFCO. Comme nous avons employé la méthode simplifiée, nous ne prenons que la moitié des quantités indiquées sur les flacons DIFCO. Pour chaque milieu de base la dilution se fait avec de l'eau bi-distillée. Pour aider la dissolution on chauffe tout en agitant de façon à obtenir un milieu de base bien homogène.

Il convient de rappeler qu'on ne doit jamais préparer les milieux de base à l'avance.

17. Technique dite en tubes.

On remplit les tubes selon la technique déjà décrite et on les stérilise en les passant pendant un moment à l'autoclave à 110° C. Puis les portoirs garnis de tubes sont alors mis à l'étuve (30 à 37° C) jusqu'au moment de l'ensemencement.

Les souches sont soigneusement préparées à cette opération comme nous l'avons déjà décrit plus haut. Après avoir ensemencé les tubes en observant une aseptic rigoureuse, ils sont mis à l'étuve pendant 72 heures à une température fixe comprise entre 30 et 37° C.

18. Dosage de l'acidité produit par les microorganismes.

Le contenu de chaque tube à essai

est versé dans un bécher ; les tubes sont lavés plusieurs fois par le bleu de bromothymol de façon à entraîner toute l'acidité dans le bécher correspondant. On titre ensuite le contenu du Bécher avec de la soude caustique N/10 ; il faut veiller à ce que tous les tubes soient ainsi traités d'une façon identique tout le long du dosage et, par conséquent, la soude doit être la même tout le long de la titration.

La courbe-étalon est ainsi tracée en portant en ordonnées les quantités en ml de soude versées et en abscisses la quantité d'acide aminé correspondant en γ par tube.

Cette courbe nous permet donc, en reportant les quantités de soude versées pour chaque tube de l'extrait, de déterminer les γ d'acides aminés correspondants contenus dans chaque tube.

2. Résultats des dosages

21. Lysine (L. mesenteroïdes)

211. Courbe étalon et titration des échantillons.

cc de la solution étalon	cc de NaOH N/10 correspondant
-----	-----
0	0,95
0,05	2,65
0,1	3,85
0,15	4,85
0,2	5,95
0,25	7,90
0,3	8,10
0,35	8,10
0,4	9,25
0,45	9,75
0,5	10,95
0,05	2,30
0,1	3,55
0,15	5,0
0,2	5,75
0,3	7,6
0,4	9,05

	<u>cc de l'extract</u>	<u>cc de NaOH N/10</u>	<u>par ml de l'extract</u>
L ₁	0,1	3,50	-
	0,2	7,0	520
	0,3	9,0	509
	0,4	9,5	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-
L ₂	0,1	4,05	-
	0,2	6,25	500
	0,3	9,25	544
	0,4	10,85	500
	0,6	-	-
	0,8	-	-
F ₁	0,1	3,1	-
	0,2	4,3	-
	0,3	7,7	400
	0,4	8,35	340
	0,6	10,3	-
	0,8	-	-
F ₂	0,1	3,60	400
	0,2	5,35	344
	0,3	7,20	360
	0,4	7,20	360
	0,6	10,75	333
	0,8	-	-
C ₁	0,1	5	616
	0,2	7,75	608
	0,3	10,0	600
	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-
C ₂	0,1	5	616
	0,2	7,7	600
	0,3	9,75	578
	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-

212. Calculs

a) la moyenne pour L₁ et L₂ étant approximativement de l'ordre de 514 γ/ml de la solution dosée nous avons, en considérant la dilution faite au début :

514 x 150 = 77.100 γ dans 1,9953 g. de lait

Pour L_1 , soit en pourcentage :

$$\frac{77.100 \times 10^{-6} \text{ g} \times 10^2}{1,9953} \approx 3,8 \%$$

et pour L_2 , nous avons de même :

$$\frac{77.100 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9958} \approx 3,8 \%$$

Le lait contient donc 3,8 g. de lysine pour 100 g. de lait - si l'on considère les protéines pures, nous avons 3,8 g de lysine pour environ 36 g. de protéines pures soit en pourcentage :

$$\boxed{\frac{3,8 \times 100}{36} = 10,5 \%$$

b) le même raisonnement appliqué à F_1 puis à F_2 nous donne :

* pour F_1 la moyenne est de 370 γ /ml de la solution, soit en considérant la dilution :

370 x 300 = 111000 γ dans 1,9953 g. de fromage ce qui nous donne en pourcentage :

$$\frac{111.000 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9953} \approx 5,5 \text{ g de lysine}$$

pour 100 g. de fromage maigre séché.

* pour F_2 nous avons 107.700 γ dans 1,9967 g. soit :

$$\frac{107.700 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9967} \approx 5,3 \text{ g de lysine}$$

pour 100 g. de fromage maigre.

La moyenne pour F_1 et F_2 est de 5,4 g. de lysine dans 100 g. de fromage maigre ; rapporté aux protéines pures cela nous donne :

$$\boxed{\frac{5,4 \times 100}{49} \approx 11 \%$$

c) de même pour C_1 et C_2
 nous avons :

* pour C_1

608 x 300 = 182.400 γ dans 1,9960 g. de caséine soit :

$$\frac{182.400 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9960} \approx 9,1 \text{ g.}$$

de lysine dans 100 g. de caséine.

* pour C_2 , il y a 182.400 γ dans 1,9982 g. de caséine soit

$$\frac{182.400 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9982} \approx 9,1 \%$$

La moyenne de C_1 et C_2 , rapportée aux protéines pures, nous donne :

$\frac{9,1 \times 100}{92} \approx 9,8 \%$
--

*
 22. Cystine (100 γ par ml)
 (L. arabinosus)

* normalement on utilise une concentration de 50 γ mais comme la courbe monte très vite, nous pensons avoir utilisé une concentration de 100 γ , par erreur.

221. Courbe étalon et titration des échantillons.

<u>cc de la solution étalon</u>	<u>cc NaOH N/10 correspondant</u>
---------------------------------	-----------------------------------

0	0,5
0,05	7,6
0,1	10,35
0,15	13,05
0,2	15,1
0,25	16,5
0,3	17,3
0,35	18,50
0,4	18,95
0,45	19,25
0,5	19,65
0,05	7,15
0,1	10,2
0,15	12,9
0,2	15,20
0,3	16,95
0,4	18,65

	<u>cc solution extrait</u>	<u>cc NaOH N/10</u>	<u>g/ml de l'extrait</u>
L ₃	0,1	5,2	28
	0,2	7,5	-
	0,3	10,75	32
	0,4	13,15	-
	0,6	14,8	32
	0,8	18,15	-
L ₄	0,1	5,3	29
	0,2	8,8	33
	0,3	10,65	30,6
	0,4	13,05	-
	0,6	15,8	-
	0,8	-	-
F ₄	0,1	3,05	14
	0,2	5,25	14
	0,3	7,0	14,6
	0,4	8,1	14
	0,6	10,75	15,8
	0,8	13,0	-
F ₃	0,1	3,1	14
	0,2	5,3	14
	0,3	7,1	15
	0,4	8,9	16,5
	0,6	10,0	13,6
	0,8	13,0	-
C ₃	0,1	3,65	18
	0,2	6,35	19
	0,3	8,2	19
	0,4	8,85	16,5
	0,6	-	-
	0,8	-	-
C ₄	0,1	3,85	19
	0,2	6,65	20
	0,3	8,5	20
	0,4	9,2	17,5
	0,6	-	-
	0,8	-	-

222. Calculs

* L₃ : la moyenne est 32 g/ml soit :
 $32 \times 103 = 3296$ g dans 1,9975 g. de lait

$$\text{soit : } \frac{3296 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9975} = 0,165 \text{ g. de cystine}$$

pour 100 g. de lait ce qui nous donne en considérant les protéines pures :

$$\frac{0,165 \times 100}{36} = 0,45 \%$$

* L_4 : $31 \times 100 = 3100$ dans 2,0038 g. de lait soit en pourcentage :

$$\frac{3100 \times 10^{-6} \times 10^2}{2,0038} = 0,154 \%$$

et en considérant les protéines pures

$$\frac{0,154 \times 100}{36} \approx 0,43 \%$$

La moyenne pour L_3 , L_4 est donc de 0,44 %

* F_3 : $14,6 \times 200 = 2920$ ceci dans 1,9977 g. soit en pourcentage :

$$\frac{2920 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9977} = 0,146 \text{ g. de cystine dans 100 g. de fromage.}$$

soit en considérant les protéines pures :

$$\frac{0,146 \times 100}{49} \approx 0,3 \%$$

* F_4 : $14,5 \times 200 = 2900$ ceci dans 1,9992 g. de fromage ; soit en pourcentage :

$$\frac{2900 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9992} = 0,145 \%$$

et en reportant aux protéines pures nous avons :

$$\frac{0,145 \times 100}{49} \approx 0,3 \%$$

donc on a approximativement 0,3 g. de cystine dans 100 g. de protéines pures du fromage.

* C_3 : $18,5 \times 200 = 3700$ dans 1,9993 g. de caséine soit :

$$\frac{3700 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9993} = 0,185 \%$$

soit en reportant ce pourcentage aux protéines pures :

$$\frac{0,185 \times 100}{92} \simeq 0,2 \%$$

* C_4 : $19 \times 200 = 3800$ γ dans 2,0008 g. de caséine, soit :

$$\frac{3800 \times 10^{-6} \times 10^2}{2,0008} = 0,189 \%$$

et, par rapport aux protéines pures, cela fait :

$$\frac{0,189 \times 100}{92} \simeq 0,2 \%$$

La moyenne de C_4 et C_3 est donc de 0,2 %

23. Méthionine (L. arabinosus)

231. Courbe étalon et titration de l'échantillon.

cc solution étalon

cc NaOH N/10

0	0,15
0,05	1,70
0,1	3,10
0,15	4,80
0,2	6,35
0,25	8,35
0,3	9,65
0,35	10,7
0,4	11,95
0,45	13,0
0,5	13,7
0,05	1,85
0,1	3,55
0,15	4,65
0,2	6,80
0,3	9,95
0,4	12,0

cc solution d'extrait

cc NaOH N/10

γ/ml d'extrait

	0,1	2,35	33
	0,2	4,55	32,5
L' 3	0,3	8,1	-
	0,4	8,15	30,5
	0,6	-	-
	0,8	-	-

	<u>cc solution d'extrait</u>	<u>cc NaOH N/10</u>	<u>γ/ml d'extrait</u>
	0,1	4,15 ?	-
	0,2	5,85	42,5
L' 4	0,3	8	40
	0,4	10,8	43,25
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,1	2,15	30
	0,2	5,05	36,5
	0,3	non dosé	-
F' 3	0,4	9,05	34,25
	0,6	12,35	34,83
	0,8	-	-
	0,1	2,15	-
	0,2	5	36,0
F' 4	0,3	6,95	34,3
	0,4	9,65	37,0
	0,6	12,85	36,8
	0,8	-	-
	0,1	4,05	58
	0,2	8,1	61
C' 3	0,3	11,7	64
	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-
	0,1	3,95	-
	0,2	8,30	62,5
	0,3	11,75	64,3
	0,4	13,6	61,5
	0,6	-	-
	0,8	-	-

232. Calculs

* L' 3 32 x 40 = 1280 γ ceci dans 10 cc de la solution de départ (celle de la cystine) soit :

$\frac{1280 \times 103}{10} = 13184 \gamma$ dans 1,9975 g. de lait et en pourcentage.

$$\frac{13184 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9975} = 0,66 \%$$

et en reportant aux protéines pures :

$$\frac{0,66 \times 100}{36} = 1,86 \%$$

* $\frac{F'_4}{4}$ $41,9 \times 40 = 1676 \gamma$ ceci dans 10 cc de la solution qui a servi à doser la cystine ou 16760γ dans 2,0038 g. soit :

$$\frac{16760 \times 10^{-6} \times 10^2}{2,0038} = 0,83 \%$$

ou encore, en rapportant ce chiffre aux protéines pures :

$$\frac{0,83 \times 100}{36} = \underline{2,3 \%}$$

c'est ce dernier chiffre qui se rapproche le plus de la réalité.

* $\frac{F'_3}{3}$ $35,2 \times 40 = 1408 \gamma$ dans 10 cc de la solution de départ (celle qui a servi à la cystine), soit :

$1408 \times 20 = 28160 \gamma$ dans 1,9977g de fromage et en pourcentage cela fait :

$$\frac{28160 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9977} = 1,40 \%$$

et par rapport aux protéines pures, nous avons :

$$\frac{1,40 \times 100}{49} = 2,8 \%$$

* $\frac{F'_4}{4}$ $36,6 \times 40 = 1464 \gamma$ ceci dans 10 cc de la solution ayant servi à doser la cystine soit :

$1464 \times 20 = 29280 \gamma$ dans 1,9992 g. de fromage soit :

$$\frac{29280 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9992} = 1,46 \%$$

et par rapport aux protéines pures, cela fait :

$$\frac{1,46 \times 100}{49} \simeq 2,9 \%$$

Nous pouvons prendre ce chiffre de 2,9 % pour la moyenne de $\frac{F'_3}{3}$ et $\frac{F'_4}{4}$.

* $\frac{C'_3}{3}$ $61 \times 40 = 2440 \gamma$ dans 10 cc de la solution de départ soit :

$2440 \times 20 = 48800 \gamma$ ceci dans 1,9993 g. de caséine soit :

$$\frac{48800 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9993} = 2,4 \%$$

et par rapport aux protéines pures :

$$\frac{2,4 \times 100}{92} \approx 2,6 \%$$

* $\frac{C'}{C}$ 4: 62,7 x 40 = 2508 γ dans 10 cc de la solution mère
soit 4:

2508 x 20 = 50160 γ dans 2,008 g. de caséine soit :

$$\frac{50160 \times 10^{-6} \times 10^2}{2,008} = 2,5 \%$$

et, par rapport aux protéines pures, cela fait :

$$\frac{2,5 \times 100}{92} = 2,7 \%$$

24. Tryptophane

241. Courbe étalon et titration d'extraits.

cc solution étalon

cc NaOH N/10

0	0,6
0,05	1,9
0,1	3,50
0,15	3,95
0,2	4,95
0,25	5,5
0,3	6,45
0,35	6,75
0,4	7,8
0,45	8,3
0,50	9,2
0,05	1,9
0,1	3,2
0,2	5,10
0,3	6,50
0,4	7,35

	<u>cc de l'extrait</u>	<u>cc NaOH N/10</u>	<u>γ/ml de l'extrait</u>
L ₆	0,1	3,2	27
	0,2	6,0	33,75
	0,3	7,8	32,8
	0,4	8,85	29,2
	0,6	-	-
	0,8	-	-
F ₅	0,1	3,7	33
	0,2	5,2	30
	0,3	6,8	28,3
	0,4	7,2	21,6 ?
	0,6	-	-
	0,8	-	-
F ₆	0,1	3,9	36
	0,2	5,7	31,25
	0,3	6,65	26
	0,4	7,45	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-
C ₅	0,1	4,1	38,5
	0,2	6,5	37,5
	0,3	8,95	40,3
	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-
C ₆	0,1	3,8	35
	0,2	6,75	39,75
	0,3	8,90	40
	0,4	-	-
	0,6	-	-
	0,8	-	-

242. Calculs

On multiplie les résultats par 2 à cause de la racémisation qui se produit.

* L₆ 61,4 x 300 = 18420 γ dans 1,9921 g. de lait soit :
0,92% et par rapport aux protéines pures :

$\frac{0,92 \times 100}{36} = 2,5 \%$

* $\underline{F}_5$ $60,8 \times 600 = 36480 \gamma$ dans 1,9983 g. de fromage soit en pourcentage :

$$\frac{36480 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9983} = 1,82 \%$$

et par rapport aux protéines pures :

$$\frac{1,82 \times 100}{49} = 3,7 \%$$

* $\underline{F}_6$ $67,4 \times 600 = 40440 \gamma$ dans 2,0004 g. de fromage soit en pourcentage :

$$\frac{40440 \times 10^{-6} \times 10^2}{2,0004} \approx 2,02 \%$$
 ce qui, rapporté aux

protéines pures, donne :

$$\frac{2,02 \times 100}{49} \approx 4,1 \%$$

soit une moyenne pour $\underline{F}_5$ et $\underline{F}_6$ de 3,9 %

* $\underline{C}_5$ $77,4 \times 600 = 46440 \gamma$ dans 1,9998 g. de caséine soit en pourcentage :

$$\frac{46440 \times 10^{-6} \times 10^2}{1,9998} = 2,32 \%$$

ou, par rapport aux protéines pures :

$$\frac{2,32 \times 100}{92} = 2,52 \%$$

* $\underline{C}_6$ $80 \times 600 = 48000 \gamma$ dans 2,0010 g. soit en pourcentage :

$$\frac{48000 \times 10^{-6} \times 10^2}{2,0010} \approx 2,39 \approx 2,4 \%$$

ou, par rapport aux protéines pures :

$$\frac{2,4 \times 100}{92} = 2,6 \%$$

la moyenne de $\underline{C}_5$ et $\underline{C}_6$ est donc de 2,56 %

Tous ces calculs sont résumés dans le tableau XI

Produits Acides Aminés	Lait écrémé en poudre	Fromage maigre séché	Caséine
Lysine	10,5	11	9,8
Cystine	0,44	0,3	0,2
Méthionine	2,08	2,9	2,6
Tryptophane	2,5	3,9	2,56

Tableau XI - Teneur en acides aminés (dosés), du lait écrémé en poudre, de la caséine, et du fromage maigre séché utilisés (pourcentage calculé sur la base de 16 % d'Azote).

IV. Dosage microbiologique de la Riboflavine (vitamine B₂) et acide nicotinique (vitamine PP) dans le fromage.

Remarque préliminaire : le principe de la méthode que nous avons employée pour le dosage des vitamines B₂ et PP est absolument le même que celui dont nous avons parlé plus haut à propos des acides aminés. Aussi n'allons-nous étudier que les variantes propres au dosage de ces vitamines.

1. Préparation des échantillons.

11. Pesées

* Pour le dosage de la vitamine B₂ nous avons disposé de 2 tubes :

B₂₁ contenant 1,9955 g. de fromage
B₂₂ " 1,9978 g. "

* Pour le dosage de la vitamine PP nous avons également deux tubes :

PP₁ contenant 2,0005 g. de fromage
PP₂ " 2,0 g. de "

12. Hydrolyse.

* Dans chacun des tubes B₂₁ et B₂₂ on ajoute 25 ml d'acide chlorhydrique N/10.

* Dans les tubes PP₁ et PP₂ l'hydrolyse s'effectue également en milieu chlorhydrique, on²ajoute à chacun des tubes 25 cc de HClN.

Les tubes ainsi préparés sont placés dans des récipients métalliques et mis ensuite à l'autoclave pendant 10 mn. à 120° C.

Quand les tubes se sont refroidis, on ramène chaque hydrolysats à pH 4,5 à la touche, comme cela était le cas pour les acides aminés, avec comme indicateur coloré le bleu de bromothymol. Ensuite ces hydrolysats sont ramenés à 50 ml avec de l'eau bidistillée et filtrés. Les filtrats sont conservés au réfrigérateur jusqu'au moment de l'emploi pour éviter toute contamination possible.

Toutes ces opérations sont complétées le plus souvent par des précautions particulières à prendre en relation avec les propriétés et les caractéristiques propres à chaque vitamine.

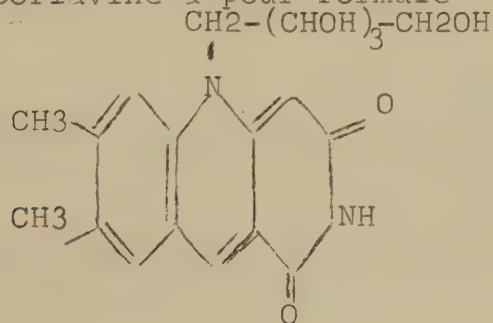
2. Modalités expérimentales des dosages :

Tout comme pour le dosage des acides aminés, la méthode employée est celle de la "technique en tubes".

21. Dosage de la vitamine B₂

211. Rappel de certaines propriétés chimiques de la riboflavine :

La riboflavine a pour formule (59)



Elle est insoluble dans les solvants des graisses, peu soluble dans l'eau ; elle l'est davantage dans le sérum physiologique, l'acide formique et les bases. Mais elle est instable avec ces dernières.

La nature de la lumière a une influence remarquable sur la destruction de la riboflavine. Cette photosensibilité augmente avec le pH et elle est fonction de la température: du lait maintenu à 100° C à 1,5 m d'une fenêtre, accuse une perte en riboflavine de 26 % en 5 mn. et 65 % après 45 mn. (59)(60).

Le pH a aussi une influence capitale. Stable en milieu acide, elle est détruite en milieu alcalin.

Toutes ces propriétés nous imposent des conditions de travail particulières lors des opérations précédemment décrites. Ainsi, pendant toute la durée de la préparation des échantillons et du dosage, la salle de travail était protégée de la lumière du jour par des rideaux. En outre, pour le pH, nous opérons à 4,5 comme nous l'avons relaté.

212. Dosage.

Le dosage de cette vitamine dans nos 2 échantillons B₂₁ et B₂₂ a été effectué en même temps que d'autres échantillons ²² au laboratoire. Aussi ne possédons-nous que le résultat final de ce dosage. Toutefois signalons qu'il s'effectue dans les conditions décrites plus haut, en particulier à l'abri de la lumière et de la même manière que dans le cas des acides aminés. En effet, c'est encore une fois la technique en tubes que nous avons adoptée :

- pour la courbe-étalon, il y a 12 tubes (témoin de stérilisation, témoin de pureté du milieu et 10 tubes recevant des doses croissantes de vitamines allant de 0,05 à 0,5 cm³ de la solution étalon). On ajoute directement 10 cm³ de milieu de base à chacun des tubes.

- pour l'extrait, on considère 6 doses : 0,05 ; 0,10 ; 0,15 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4. Et on leur ajoute directement 10 cm³ du milieu de base.

Tous ces tubes sont sur des portoirs métalliques avec couvercle métallique ; on stérilise l'ensemble pendant 15 secondes à 115° C au plus.

Une fois les tubes refroidis, on ensemente, dans le cas de la riboflavine, avec *Lactobacillus casei* { qui demeure la

souche type du dosage de cette vitamine malgré la découverte d'autres microorganismes le permettant également ; l'aseptie est, bien entendu, de règle au cours de cette opération.

L'incubation est quelque chose de très important ; elle doit être faite dans une étuve à température constante entre 30° et 37° C. et la variation tolérée est de $\pm 1^\circ\text{C}$. Cette incubation dure environ 72 heures.

213. Titration et résultats.

La titration de l'acidité produite par le microorganisme se fait à l'aide de soude caustique environ N/10. Il est indispensable de prévoir une quantité de soude N/10 suffisante afin que tous les tubes soient traités jusqu'à la fin dans les mêmes conditions. Les tubes sont lavés trois ou quatre fois avec une solution de Bleu de bromothymol qui est l'indicateur coloré utilisé.

Les résultats qui nous ont été communiqués sont les suivants :

- 0,145 γ de vitamine B₂/ml de l'hydrolisat B₂₁
- 0,150 γ " " B₂₂

214. Calculs

- * B₂₁ : $0,145 \times 50 = 7,250 \gamma$ dans 1,9955 g. de fromage soit 3,63 μg par g. de fromage.
- * B₂₂ : $0,150 \times 50 = 7,50 \gamma$ dans 1,9978 g. de fromage ou 3,75 μg par g. de fromage.

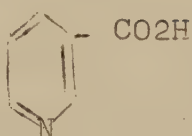
Ce qui nous donne comme moyenne 3,7 μg . de vitamine B₂ par gramme de fromage aux erreurs des expériences près.

22. Dosage de la niacine (vitamine PP)

221. Rappel de quelques propriétés de la niacine.

Cette Vitamine existe sous forme d'acide ou d'amide nicotinique (59) dont les formules

sont les suivantes :



acide
nicotinique



amide
nicotinique

Cette vitamine du groupe B est l'une des plus stables : elle résiste aux acides, aux bases et à l'oxydation ; elle est photostable et thermostable. Toutes ces propriétés font qu'il n'y a pas de précautions spéciales à prendre au cours du dosage de cette vitamine.

222. Dosage.

Nous répétons exactement les mêmes opérations que celles effectuées pour la vitamine B₂ : le remplissage des tubes pour l'établissement de la courbe-étalon et pour l'extrait, la stérilisation des tubes et leur incubation se font dans les mêmes conditions que celles décrites plus haut pour la riboflavine.

La souche employée pour ensemercer les tubes est *Lactobacillus arabinosus* qui est peu sensible aux acides gras et aux agents perturbateurs en général (59) ; de ce fait, ce dosage ne nécessite pas de précautions particulières au cours des manipulations en dehors de la filtration à pH 4,5.

223. Titration et résultats

2231. Etablissement de la courbe-étalon et titration des échantillons de l'extrait :

<u>ml de la solution étalon</u>	<u>ml NaOH N/10</u>
0	1,20
0,05	2,35
0,1	3,75
0,15	5,20
0,2	6,06
0,25	7,30
0,3	8,59
0,35	9,11
0,4	9,18

<u>ml de solution étalon</u>	<u>ml NaOH N/10</u>
0,45	9,57
0,5	9,85
0,05	2,35
0,1	3,93
0,2	7,25
0,3	8,65
0,4	9,7
0,5	10,10

<u>ml de l'extrait</u>	<u>ml NaOH N/10</u>	<u>γ/ml d'extrait</u>
		0
	1,25	-
	1,35	0,06
PP ₁	1,50	0,066
0,2	1,60	0,07
0,3	1,68	0,058
0,4	1,90	0,06
	1,20	-
	1,40	0,06
PP ₂	1,45	0,066
0,2	1,55	0,06
0,3	1,7	0,06
0,4	1,9	0,06

2232. Calculs

* PP₁ : nous avons 0,0613 γ/ml de l'hydrolisat soit en considérant la dilution :

$0,0613 \times 50 = 3,065$ γ dans 2,0005 g. de fromage ce qui fait approximativement :
1,5 μg de niacine/g de fromage.

* PP₂ : nous avons 0,06 γ/ml de l'hydrolysate soit en considérant la dilution :

$0,06 \times 50 = 3,00$ γ dans 2,0 g. de fromage soit 1,5 μg /g.

La moyenne de ces deux résultats est donc 1,5 μg de niacine/gramme de fromage.

V. Conclusions.

Les dosages des quatre acides aminés (lysine, méthionine, cystine et tryptophane) et des deux vitamines du groupe B à savoir la riboflavine et la niacine, nous ont permis d'avoir une idée sur l'apport en ces éléments, du fromage maigre séché comparativement au lait écrémé en poudre et à la caséine. Nous aurions bien voulu pouvoir doser plus d'acides aminés indispensables et plus de vitamines ; cela nous aurait permis de tirer des conclusions plus complètes et plus approfondies.

Toujours est-il que la lysine, la méthionine, la cystine et le tryptophane constituent d'après Frontalig (49) le groupe d'acides aminés qui font défaut dans les régimes farineux de la plupart des pays où l'on rencontre la malnutrition protéique. Ces mêmes régimes sont aussi carencés en certains facteurs vitaminiques surtout ceux du groupe B qui exercent une influence notable sur l'intégrité cutanée.

Si nous pouvons comparer plus facilement les résultats à propos du lait ou de la caséine, il n'en est malheureusement pas de même de ceux trouvés pour le fromage maigre séché qui n'a pas suscité jusqu'à présent - du moins à notre connaissance - des recherches similaires. Ainsi pour la caséine, nous avons d'après Beau (56) :

lysine	7,72 %	dans la caséine
cystine	0,02 %	" "
méthionine	3,50 %	" "
tryptophane	1,70 %	" "

et il en ressort que notre taux de cystine, dans le cas de la caséine en particulier, est assez élevé (0,2 %), car cet acide aminé ne se rencontre que sous forme de traces dans la caséine. En ce qui concerne les taux relatifs au lait, ils se rapprochent dans l'ensemble de ceux trouvés par différents chercheurs ; ainsi, nous reproduisons les taux des quatre acides aminés que nous avons dosés dans un tableau extrait d'une étude de la Fédération Internationale de Laiterie (61), d'après Black et Weiss (62) et Orr et Watt (63) :

Tableau XII. - Teneur en acides aminés (g/16 g. d'azote) des protéines totales du lait.

	<u>Black et Weiss</u>	<u>Orr et Watt</u>
Cystine	0,9	0,9
Méthionine	2,4	2,5
Lysine	9,9	10,0
Tryptophane	1,3	1,4

Pour le cas qui nous intéresse, c'est à dire celui du fromage maigre séché, et en considérant les résultats auxquels nous sommes parvenus, nous pensons - à priori - que ce fromage pourrait revaloriser le repas traditionnel des pays en voie de développement. Cependant nos recherches ayant porté uniquement sur quatre acides aminés indispensables, il serait donc prématuré de tirer une conclusion définitive sur la question d'autant plus qu'il s'agit là d'une première initiative dans l'étude de ce genre de fromage ; il serait souhaitable qu'un travail approfondi sur le taux des différents acides aminés indispensables et leur évolution soit entrepris afin de tirer des conclusions plus complètes à ce sujet.

Parallèlement à ces travaux, et toujours dans le but d'expliquer la valeur biologique du fromage maigre séché à laquelle nous sommes arrivés à l'issue des expériences biologiques, nous avons étudié l'influence que pourrait avoir la concentration de la présure sur la libération de l'azote dans le lactosérum ; d'autres expériences annexes ont été effectuées dans le même but ; c'est ce que nous allons exposer dans ce qui suit.

0.1 M NaOH ml/10

Lysine 400X/ml

0.01 g/l

0.02

0.04

0.06

0.08

0.10

0.12

0.14

0.16

0.18

0.20

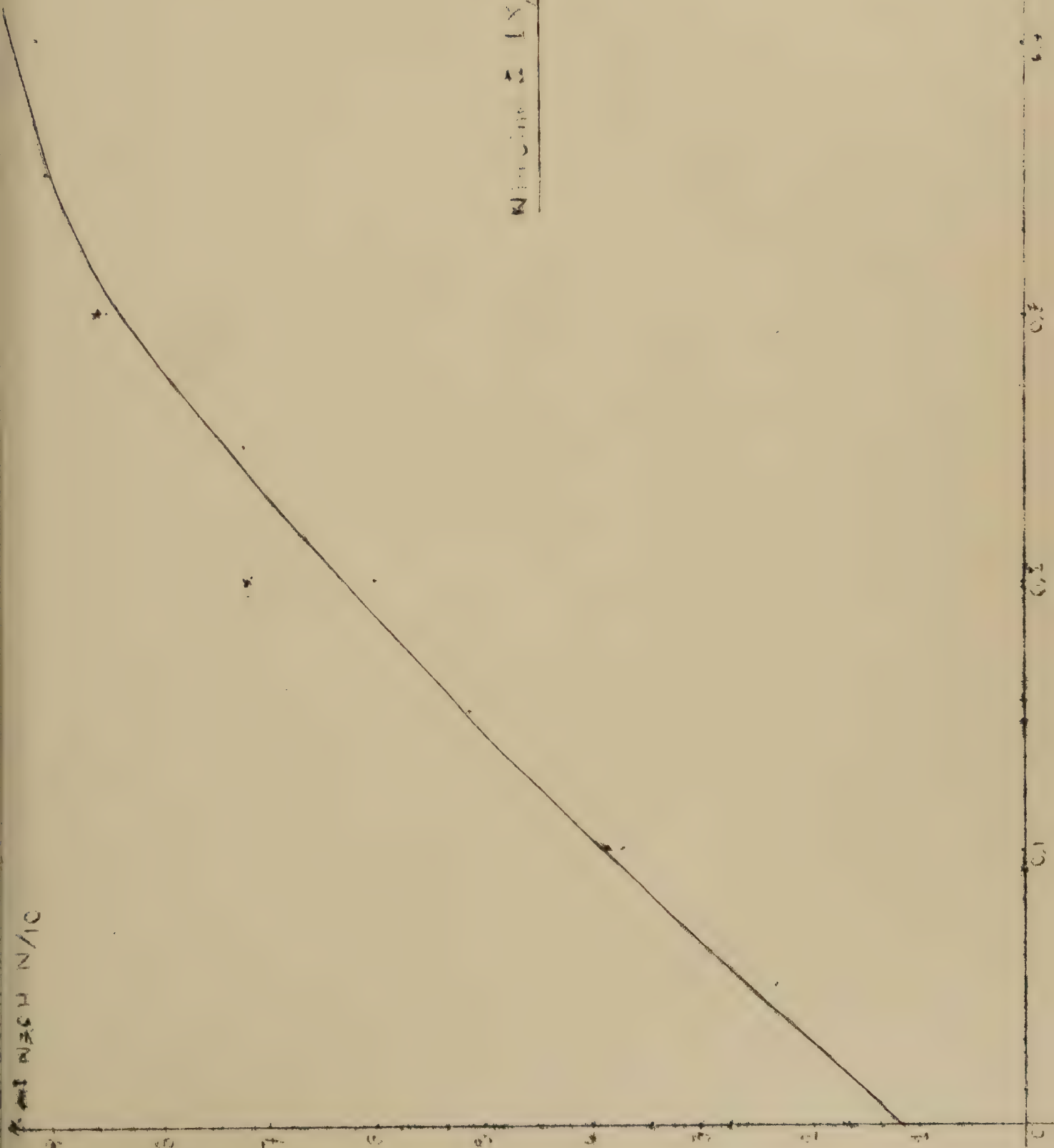
1 N HCl

Methylene 50 g/mol



1914/2

Wavelength 18/100

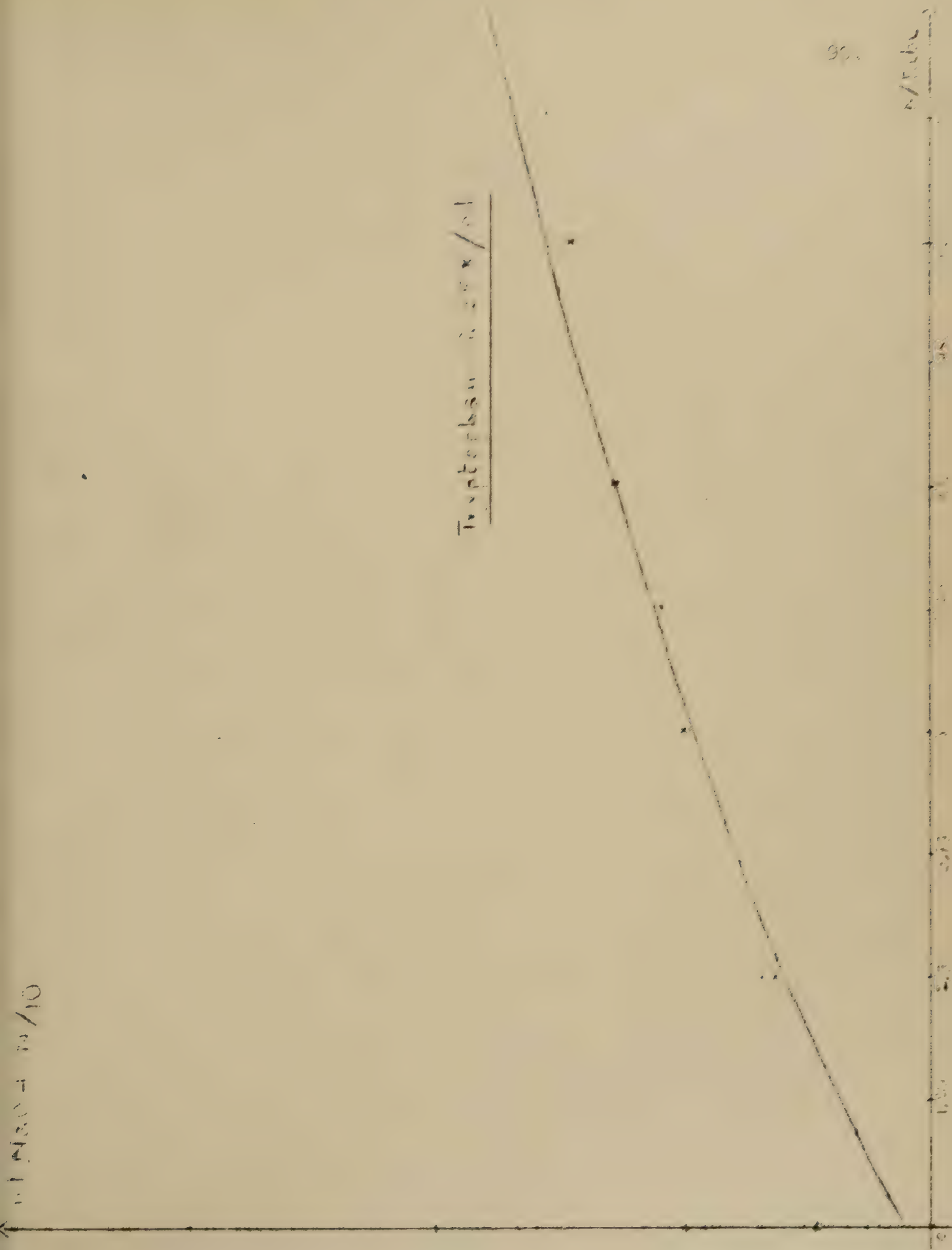


0.1 N NaOH 10

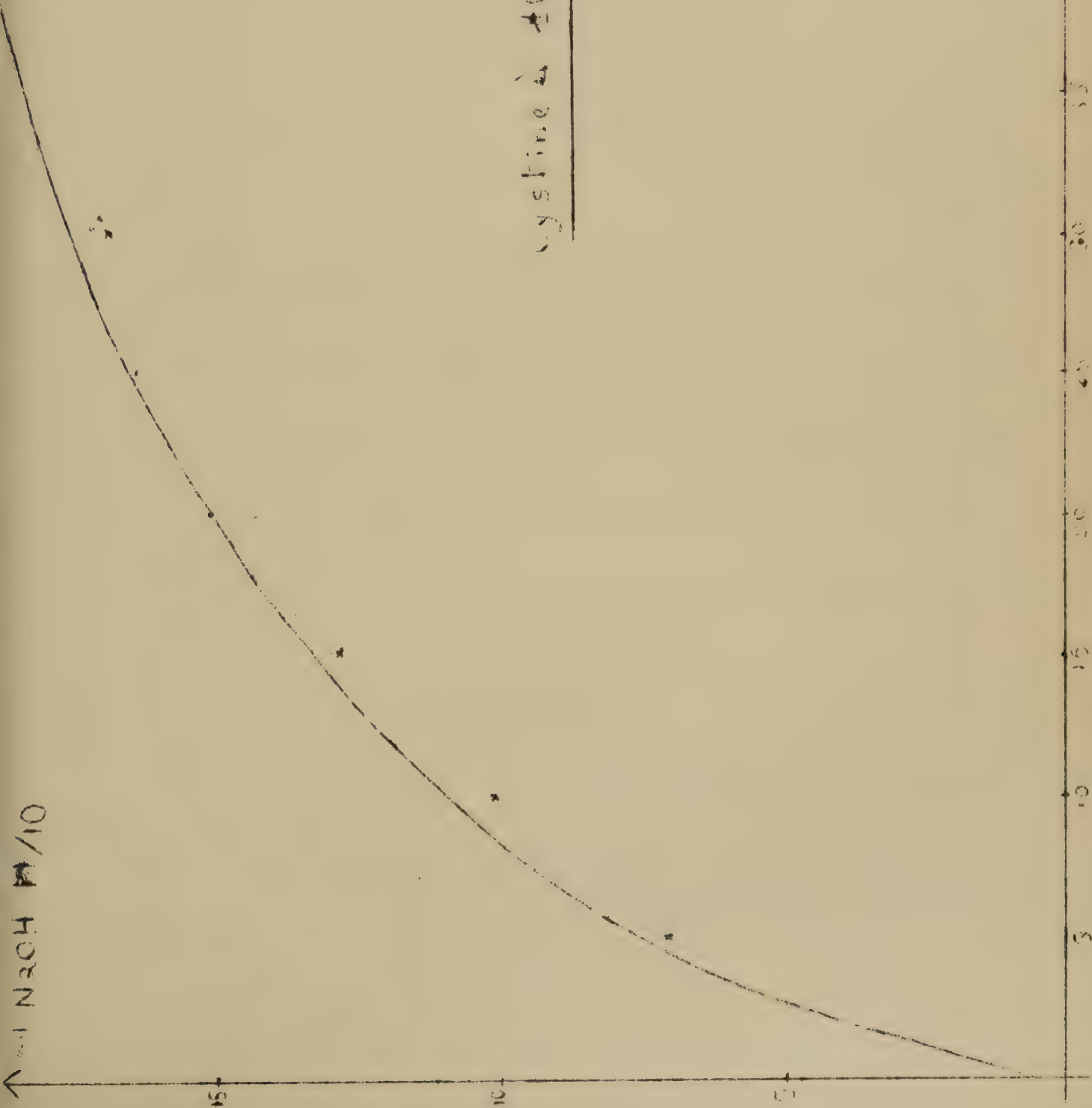
Triptoban 2.5 x 10⁻¹

0.1 N NaOH

90



Cystine

Cystine Δ 4000/ml

VI. Influence de la concentration de présure sur la libération de l'azote du caillé vers le lactosérum.

1. Introduction.

Un certain nombre de travaux ont été consacrés à l'étude de l'influence du caillage et l'élimination du lactosérum sur la valeur nutritive des protides du lait (20) ; d'autres ont permis d'étudier l'influence de différents modes de caillage sur la valeur biologique des protides du lait (24)(25). Mais, à notre connaissance, il n'y a pas eu d'étude consacrée au problème de la concentration de la présure et son influence sur la libération de l'azote du caillé dans le lactosérum. C'est la raison pour laquelle il nous a semblé utile d'aborder ce problème.

Nos recherches se sont déroulées de la manière suivante :

- La préparation d'un échantillon de lait (5 litres) à partir d'un lait écrémé préparé par la méthode Spray.
- Emprésurage de 5 échantillons de lait avec des doses croissantes d'une présure commerciale.
- Après le caillage, tranchage du caillé et séparation de ce dernier et du lactosérum par centrifugation suivie d'une filtration.
- Dosage de l'azote total sur chacun des échantillons du lactosérum.
- Séparation et dosage des différents azotes contenus dans le lactosérum.

2. Protocole expérimental.

21. Préparation des échantillons.

Nous avons préparé 5 litres de lait écrémé en mettant 500 g. de lait écrémé en poudre et en complétant à 5 litres avec de l'eau distillée et 100 cm³ de chlorure de calcium à 2,5 %. Nous avons chauffé l'ensemble pour aider la dissolution ; ces 5 litres de lait ont été répartis en 5 échantillons d'1 litre chacun.

Quand la température du lait avoisinait 30° C, nous avons procédé à l'emprésurage de la manière suivante : une présure commerciale ayant une force - que nous avons calculée - de 1/9.000 a été diluée au 1/10 ; de cette solution, nous avons mis :

- 2 cm³ dans le premier litre de lait
- 3 cm³ " le deuxième
- 4 cm³ " le troisième
- 5 cm³ " le quatrième
- 6 cm³ " le cinquième

Les 5 échantillons de lait ont coagulé dans un intervalle de temps compris entre 3 heures 1/2 et 5 heures ; nous avons procédé au décaillage de chaque échantillon suivi d'une centrifugation à 1200 tours par minute et ensuite nous avons filtré. Nous avons ainsi obtenu 5 échantillons de lactosérum numérotés de 2 à 6.

22. Dosage de l'azote total.

Sur chacun des 5 échantillons de lactosérum, le dosage de l'azote total a été réalisé grâce à la méthode Kjeldahl.

La prise d'essai était de 5 cm³ de lactosérum auquel on ajoutait 10 ml d'acide sulfurique, une pincée de catalyseur de minéralisation ainsi que des billes en verre pour homogénéiser la température pendant la minéralisation.

Nous trouverons, dans un tableau général, le résultat de ces dosages.

3. Fractionnement et dosage des protéines du lactosérum.

Aschaffenburg et coll. (64) ont trouvé une méthode très commode et rapide pour la détermination des différents azotes du lait, et que nous avons adoptée au cas du lactosérum.

31. Détermination de l'azote Albumines total + Azote non protéique.

- On prélève et on pèse 40 ml de lactosérum dans une fiole jaugée de 100 ml.
- On réchauffe à 40° C environ dans un bain-marie.

- On ajoute avec une éprouvette 40 ml de solution de SO_4Na_2 à 40 % portée également à 40° C.
- On mélange par rotation le contenu de la fiole, on laisse refroidir à 20° C environ et on ajuste à 100 ml avec une solution de SO_4Na_2 à 20 %.
- On renverse doucement et on filtre à travers un papier Whatman n° 4.

Nous aboutissons ainsi au filtrat 1 dans lequel nous avons :

β lactoglobuline - albumines résiduelles (α lactalbumine + sérum albumine) - azote non protéique.

Quant au précipité il renferme :

Caséine - protéose - peptone - globuline

Ensuite on minéralise l'azote contenu dans 20 ml du filtrat 1 qu'on dose ensuite par la méthode Kjeldhal.

Calculs :

- P_1 représentant le poids du sérum en grammes.
- V_1 représentant le volume en ml de H_2SO_4 N/20 neutralisé
- et sachant que, aussi, 1 ml de H_2SO_4 N/20 correspond à 0,7 mg d'azote, nous avons :

$$N_1 \text{ mg / } 100 \text{ g. de sérum} = \frac{V_1 \times 0,7 \times 5 \times \frac{98}{P_1}}{\frac{V_1}{P_1} \times 343} =$$

* 98 pour tenir compte du précipité.

N_1 représente : azote albumines total + azote non protéique

32. Détermination de l'azote β lactoglobuline et azote non protéique.

- on prélève 40 ml du filtrat 1 dans un erlen de 50 ml.

./.

- On ajoute 1 ml d'une solution de HCl à 15 %. On mélange doucement et on laisse reposer 30 minutes.
- On filtre sur papier Whatman n° 40 (ou filtre sans cendres Durieux n° 111 à bande étanche).

On aboutit ainsi au filtrat 2 dans lequel nous avons :

les β lactoglobulines + azote non protéique

Quant au précipité, il renferme les albumines résiduelles. On minéralise l'azote contenu dans 20 ml du filtrat 2 qu'on dose ensuite par la méthode Kjeldahl.

Calculs.

- P_1 représentant le poids des 40 ml de sérum.
- V_2 représentant le volume en millilitres d'acide sulfurique N/20² neutralisé.

Nous avons :

$$N_2 \text{ mg/100 g. de sérum} = V_2 \times 0,7 \times 5 \times \frac{41}{40} \times \frac{98}{P_1} = \frac{V_2}{P_1} \times 351$$

N_2 représente l'azote de β lactoglobulines + azote non protéique.

33. Détermination de l'azote non caséine

- On prélève et on pèse 80 cc de sérum dans une fiole jaugée de 100 ml.
- On réchauffe à 35° C environ et on ajoute 4 ml d'acide acétique à 10 % ; et 5 à 10 minutes plus tard on ajoute 4 ml d'une solution d'acétate de soude normale. On laisse refroidir et on ajuste à 100 ml avec de l'eau distillée. On mélange et on filtre sur papier Whatman n° 40.

On aboutit au filtrat n° 3 qui renferme l'azote non caséine.

- On prélève 15 cm^3 du filtrat 3 sur lesquels on fait une minéralisation et un dosage par la méthode Kjeldahl.

Calculs.

- P_3 étant le poids du sérum.
- V_3 étant le volume en ml d'acide sulfurique N/10 neutralisé, nous avons :

$$N_3 \text{ mg/100 g. de sérum} = V_3 \times 0,7 \times \frac{100}{15} \times \frac{98}{P_3} = \frac{V_3}{P_3} \times 457$$

N_3 représente l'azote non caséine.

34. Détermination de l'azote non caséine moins l'azote protéose peptone.

- On prélève 50 ml du filtrat 3 dans un erlen puis on ajoute 6 g. de SO_4Na_2 anhydre.
- On chauffe lentement en agitant doucement pour dissoudre le sel.
- On laisse refroidir puis on filtre sur papier Whatman n° 40 ou Durieux correspondant.

On aboutit ainsi au filtrat n° 4 qui renferme :

- les β lactoglobulines - albumines résiduelles - globulines
- azote non protéique.

Quant au précipité, il renferme les protéoses peptones.

On prélève 20 cm^3 du filtrat 4 qu'on minéralise et qu'on dose par la méthode Kjeldahl.

Calculs.

- P_3 représentant le poids du sérum.
- V_4 étant le volume en ml. de SO_4H_2 N/20 neutralisé, nous avons :

./.

$$N_4 \text{ mg/100 g. de s\acute{e}rum} = V_4 \times 0,7 \times 5 \times \frac{51^*}{50} \times \frac{98}{P_3} = \frac{V_4}{P_3} \times 349$$

* ce coefficient est pour tenir compte de l'addition de sel.

N_4 repr\^esente l'azote non cas\^eine - azote prot\^eose peptone.

35. D\^etermination de l'azote non cas\^eine

- On pr\^el\^eve et on p\^ese 40 ml de s\acute{e}rum dans une fiole jaug\^ee de 100 ml.
- On ajoute 30 ml d'acide trichlorac\^etique \^a 40 %.
- On ajuste \^a 100 ml. ; on attend 10 mn. et on filtre sur papier Durieux \^a bande \^etanche.

On aboutit ainsi au filtrat n\^o 5.

La min\^eralisation et le dosage par la m\^ethode Kjeldahl se fait sur 50 cc du filtrat 5.

Calculs.

Ici le calcul se base sur la correspondance entre 1_3 cm^3 d'acide sulfurique N/20 et l'azote c'est \^a dire que 1 cm^3 de H_2SO_4 N/20 correspond \^a 0,7 mg d'azote.

N_5 repr\^esente l'azote non prot\^eique.

Les r\^esultats de ces dosages sont r\^esum\^es dans le tableau XIII.

Remarque.

Des r\^esultats trouv\^es pour chacun des \^echantillons de s\acute{e}rum, il faudrait retrancher l'azote provenant de la pr\^esure qui nous a servi \^a coaguler le lait, il s'agit de l'azote concernant P_1 et P_2 dans le tableau.

TABLEAU XIII. Dosage du lactosérum - azote total et différents N du fractionnement

Echantillons	Prise d'essai	Provenance	ml SO_4H_2 0,048 N	Correspondance SO_4H_2 N/20	ml NaOH 0,045 N	Correspondance NaOH N/20	ml SO_4H_2 N/20 neutralisés	Azote dans prise d'essai	Azote %	Moyenne des résultats
I. Présure										%
P ₁	10 cc	présure 1/9000 diluée	20 cc	19,2	16,7	15,03	4,17	5,82	0,58	0,58 dans la présure 1/9000
P ₂	"	au 1/10	"	"	"	"	"	"	0,58	
II. Lactosérum										
2	5 cc	lactosérum provenant du lait emprésuré avec 2 cc de P ₁ P ₂	20 cc	19,2	16,6 (1)	14,94	10,64	7,448	0,14896	0,147
2'	"	"	"	"	16,7 (1)	15,03	10,44	7,306	0,14616	
3	"	lactosérum provenant du lait emprésuré avec 3 cc de P ₁ P ₂	"	"	16,2	14,58	9,24	6,468	0,12936	0,127
3'	"	"	"	"	16,4	14,76	8,68	6,216	0,12432	
4	"	lactosérum provenant du lait emprésuré avec 4 cc de P ₁ P ₂	"	"	16,45	14,8	8,80	6,160	0,12320	0,124
4'	"	"	"	"	16,40	14,76	8,88	6,216	0,12432	
5	"	lactosérum provenant du lait emprésuré avec 5 cc de P ₁ P ₂	"	"	16,7	15,02	8,36	5,852	0,11704	0,117
5'	"	"	"	"	16,7	15,02	8,36	5,852	0,11704	

60
TABLEAU XIII. Dosage du lactosérum - azote total et différents N du fractionnement

Echantillons	Prise d'essai	Provenance	ml SO_4H_2 0,048 N	Correspondance pondant $\text{ce SO}_4\text{H}_2$ N/20	ml NaOH 0,045 N	Correspondance pondance NaOH N/20	ml SO_4H_2 N/20 neutralisés	Azote dans prise d'essai	Azote %	Moyenne des résultats
I. Présure										%
P ₁	10 cc	présure 1/9000 diluée	20 cc	19,2	16,7	15,03	4,17	5,82	0,58	0,58 dans la présure 1/9000
P ₂	"	au 1/10	"	"	"	"	"	"	0,58	
II. Lactosérum										
2	5 cc	lactosérum provenant du lait emprésuré avec 2 cc de P ₁ P ₂	20 cc	19,2	16,6 ⁽¹⁾	14,94	10,64	7,448	0,14896	0,147
2'	"	"	"	"	16,7 ⁽¹⁾	15,03	10,44	7,308	0,14616	
3	"	lactosérum provenant du lait emprésuré avec 3 cc de P ₁ P ₂	"	"	16,2	14,58	9,24	6,468	0,12936	0,127
3'	"	"	"	"	16,4	14,76	8,68	6,216	0,12432	
4	"	lactosérum provenant du lait emprésuré avec 4 cc de P ₁ P ₂	"	"	16,45	14,8	8,80	6,160	0,12320	0,124
4'	"	"	"	"	16,40	14,76	8,88	6,216	0,12432	
5	"	lactosérum provenant du lait emprésuré avec 5 cc de P ₁ P ₂	"	"	16,7	15,02	8,36	5,852	0,11704	0,117
5'	"	"	"	"	16,7	15,02	8,36	5,852	0,11704	

Échantillons	Prises d'échantillon	Provenance	ml SO ₄ H ₂ 0,048 N	Corr- SO ₄ H ₂ N/20	ml NaOH 0,045 N	Corr- NaOH N/20	ml SO ₄ H ₂ 0,12 neutra.	Azote de prise essai	Azote %	lioy. Résul tats
6	5 cc	lact. prov- nent du lait compressé 6cc de 1 P 2	20 cc	19,2	16,7	15,02	0,36	5,052	0,117(4)	0,115
6'	"	"	"	"	15,85	15,16	0,08	5,656	0,113(2)	)
III. Fractionnement										
2 N1	20 cc	Filtrat 1	"	"	16,5	14,85	0,70		73,73	en mg/100 g. de serum
2 N1	"	"	"	"	16,4	14,76	0,88		75,26	74,5
2 N2	"	Filtrat 2	"	"	18,45	16,50	5,2		45,09	43,6
2 N2	"	"	"	"	18,65	16,78	4,84		42,09	
2 N3	15 cc	Filtrat 3	"	"	13,55	12,19	14,02		79,15	78,0
2 N3	"	"	"	"	13,65	12,28	13,84		76,93	
2 N4	20 cc	Filtrat 4	"	"	12,7	11,43	15,54		67,00	67,0
2 N4	"	"	"	"	12,95	11,65	15,50		66,83	
2 N5	50 ml	Filtrat 5	"	"	16,7	15,03	8,34		14,42	15,0
2 N5	"	"	"	"	16,35	14,71	9,98		15,53	
4 N1	20 cc	Filtrat 1	"	"	16,2	14,58	10,16		77,8	81,6
4 N1	"	"	"	"	17,95(2)	16,15	9,24		85,55	
4 N2	"	Filtrat 2	"	"	16,45	14,80	8,8		75,82	75,0
4 N2	"	"	"	"	16,55	14,89	8,62		74,27	
4 N3	15 cc	Filtrat 3	"	"	13,45	12,10	14,20		79,65	81,16
4 N3	"	"	"	"	13,15	11,83	16,62		82,68	
4 N4	20 cc	Filtrat 4	"	"	12,1	10,89	15,64		67,00	69,09
4 N4	"	"	"	"	12,65(3)	11,38	10,20		17,85	
4 N5	50 cc	Filtrat 5	"	"	18,5	16,65	8,98		15,71	16,78
4 N5	"	"	"	"	16,35	14,71	9,16		77,09	74,05
6 N1	20 cc	Filtrat 1	"	"	16,25	14,62	8,44		71,02	
6 N1	"	"	"	"	16,65	14,98	5,28		45,78	44,50
6 N2	"	Filtrat 2	"	"	18,4	16,56	5,02		82,23	81,36
6 N3	15 cc	Filtrat 3	"	"	13,20	11,88	14,64		80,63	
6 N3	"	"	"	"	13,35	12,01	16,90		72,36	72,74
6 N4	20 cc	Filtrat 4	"	"	11,95	10,75	17,08		15,85	
6 N4	"	"	"	"	11,85	10,66	9,06		16,17	
6 N5	50 cc	Filtrat 5	"	"	16,30	14,67	9,24			
6 N5	"	"	"	"	16,20	14,58				

VII. Dosage du calcium dans les cendres du fromage

1. Les cendres

Pour déterminer le pourcentage des cendres dans le fromage maigre séché, nous avons disposé de trois capsules que nous avons tarées et dans lesquelles nous avons mis environ 10 grammes de fromage mesurés exactement; nous donnons ci-dessous les détails des pesées.

Capsule n° 1

Tare	53,7513 g.
Avec le fromage	63,7220 g.
soit	9,9707 g. de fromage.

Capsule n° 2

Tare	80,1908 g.
Avec le fromage	90,3454 g.
soit	10,1546 g. de fromage.

Capsule n° 3

Tare	74,4765 g.
Avec le fromage	84,5924 g.
soit	10,1159 g. de fromage.

Ces capsules ont été placées dans un four dont nous avons réglé la température à 600°C; ce séjour a duré jusqu'à l'apparition de cendres blanches; ensuite nous avons placé les capsules dans un dessiccateur afin que le refroidissement se réalise dans une atmosphère sèche. Nous les avons ensuite pesées et nous avons enregistré les résultats suivants :

<u>Capsule n° 1</u>	54,7286 g.
soit, en tenant compte du poids de la capsule vide	
0,9773 g. de cendres pour 9,9707 g. de fromage, ou	
en pourcentage :	<u>9,80 %</u>

<u>Capsule n° 2</u>	81,1848 g.
soit, en tenant compte du poids de la capsule vide	
0,9940 g. de cendres pour 10,1546 g. de fromage, ou	
en pourcentage :	<u>9,78 %</u>

<u>Capsule n° 3</u>	75,4699 g.
soit, en tenant compte du poids de la capsule vide	
0,9934 g. de cendres pour 10,1159 g. de fromage, ou	
en pourcentage :	<u>9,82 %</u>

La moyenne de ces trois résultats étant 9,80 %.

2. Dosage du calcium

Pour le dosage du calcium nous avons travaillé sur les cendres des trois capsules précédentes et nous avons suivi les opérations suivantes :

- nous avons dissout chacun des contenus des trois capsules dans un erlen de 500 cc., en ajoutant 300 cc. de HCl au $\frac{1}{2}$.

- la solution obtenue a été ensuite filtrée sur un papier filtre sans cendre. Le filtrat obtenu contient le chlorure de calcium et un excès de HCl.

- ce filtrat est neutralisé par l'ammoniaque. Puis on le porte à l'ébullition et on ajoute le l'oxalate d'ammonium (N ou N/2). On constate la formation d'un dépôt en aiguille et on laisse reposer pendant 1 heure.

- ensuite on filtre sur filtre plat sans cendre; on recueille le précipité qu'on lave avec de l'eau distillée pour éliminer l'oxalate d'ammonium.

- le précipité est entraîné dans un erlen avec de l'eau distillée et on ajoute H₂SO₄ au $\frac{1}{4}$ pour dissoudre le précipité.

Cette solution finale est dosée à chaud vers 60-65°C avec KMnO₄ N/10.

Ainsi chaque cm³ de KMnO₄ N/10 correspondra à 2 mg. de calcium.

Pour les 3 capsules, le dosage était terminé quand on avait versé respectivement :

* pour la capsule 1 :	12,5 cm ³ de KMnO ₄	0,117 N
* pour la capsule 2 :	12,3 cm ³	-
* pour la capsule 3 :	12,35 cm ³	-

Calculs

Capsule n° 1

12,5 cm³ de KMnO₄ 0,117 N correspondent à 14,625 cm³ de KMnO₄ N/10. Cela nous donne, sachant qu'un cm³ de KMnO₄ N/10 correspond à 2 mg. de calcium :

2 x 14,625 = 29,25 mg. de calcium dans 9,9707 g. de fromage soit en pourcentage :

293 mg. de Ca/100 g. de fromage.

Capsule n° 2

12,3 cm³ de KMnO₄ 0,117 N correspondent à 14,39 cm³ de KMnO₄ 0,1N. Sachant qu'1 cm³ de KMnO₄ N/10 correspond à 2 mg. de Ca nous avons donc :

2 x 14,39 = 28,78 mg. de Ca dans 10,1546 g. de fromage .
Cela donne en pourcentage :

283 mg. de Ca/100 g. de fromage.

Capsule n° 3

12,35 cm³ de KMnO₄ 0,117 N correspondent à 14,45 cm³ de KMnO₄ 0,1 N. Sachant qu'1 cm³ de KMnO₄ 0,1 N correspond à 2 mg. de Ca, nous avons donc :

2 x 14,45 = 28,90 mg. de Ca dans 10,1159 g. de fromage.
Ce qui donne en pourcentage :

285 mg. de Ca/100 g. de fromage.

La moyenne des trois résultats est de 287 mg. de Ca par 100 g. de fromage.

Signalons que L. RANDOUIN et coll. (11) situent l'apport en calcium des différents fromages entre 100 et 700 mg/100 g. de fromage. Cet apport dépend évidemment de la richesse du lait en Calcium ainsi que du mode de fabrication des fromages.

A la lumière de ces chiffres, nous constatons que le fromage maigre séché pourrait contribuer d'une façon appréciable à l'équilibre minéral de la ration traditionnelle des pays du Tiers Monde.

VIII. Conclusions générales sur la valeur alimentaire du fromage maigre séché.

En entreprenant toutes ces recherches sur le fromage maigre séché, notre but était de montrer combien était intéressante la valeur nutritive de cet aliment.

Ainsi dans une première série d'expériences, nous avons déterminé la valeur biologique du fromage maigre séché comparativement à celles du lait écrémé en poudre et d'une farine de poisson, en soumettant trois lots de rats à trois régimes alimentaires dont la source protidique était respectivement le fromage maigre, le lait écrémé en poudre et la farine de poisson.

Cela nous a permis de déterminer la valeur biologique et le coefficient d'utilisation digestive du fromage maigre

séché qui sont respectivement de $76,0 \pm 2$ et $82,9 \pm 1,0$.
 Lors de cette étude, nous avons fait remarquer, d'après des travaux effectués par RANDOUIN et coll. (14) (19) (20) puis ceux de CAUSSE et coll. (24) (25) - et nos propres calculs l'ont confirmé - que, d'une manière générale, la valeur biologique du fromage est toujours inférieure à celle du lait dont il est issu et qu'il en était tout autrement pour le coefficient d'utilisation digestive.

Malgré tout, la valeur biologique, aussi bien d'ailleurs que le coefficient d'utilisation digestive auquel nous avons abouti pour le fromage maigre séché s'avèrent très intéressants quand on les compare aux valeurs trouvées pour les principales espèces de fromages français étudiés par RANDOUIN et coll. (19).

Ces résultats auxquels nous sommes parvenus nous ont incité, pour les expliquer, à effectuer d'autres recherches.

Ainsi nous avons dosé quatre des acides aminés indispensables (lysine, méthionine, cystine et tryptophane) qu'il nous a semblé intéressant à déterminer car ils manquent souvent dans la ration alimentaire traditionnelle des pays pauvres.

A priori, les résultats auxquels nous sommes parvenus paraissent assez intéressants et pourraient avoir une influence favorable sur la valeur biologique du fromage maigre séché. Nous ne pouvons que formuler cette hypothèse car, d'une part nous manquons d'études comparatives pour pouvoir affirmer des conclusions sûres à ce sujet; d'autre part nous n'avons pas dosé tous les acides aminés indispensables pour nous rendre compte des rapports quantitatifs qui pourraient exister entre eux; cependant, il est probable qu'il puisse y avoir, entre les différents acides aminés indispensables du fromage maigre séché, un meilleur équilibre qui expliquerait précisément sa valeur biologique. Aussi préconisons-nous une étude aussi profonde que possible dans ce sens.

Nous avons procédé ensuite au dosage des deux vitamines du groupe B (à savoir la riboflavine et la niacine); les taux que nous avons trouvés ne sont pas négligeables et peuvent également être en rapport avec la valeur biologique. Nous pouvons en dire autant pour l'apport minéral, en particulier en calcium, du fromage maigre séché.

Quant à l'étude d'une éventuelle influence de la concentration de présure sur la libération de l'azote dans le lactosérum, apparemment il n'y en a aucune sur les différents azotes du fractionnement des sérums étudiés; en revanche, il semble que, pour l'azote total, plus la dose de présure croît moins il y a d'azote dans le lactosérum; ce qui surprend à priori.

De toute façon, dans un sens ou dans un autre, cette action qui touche l'azote du caillé, donc du fromage est en rapport direct avec la valeur biologique et nécessiterait d'être revue.

Mais dans le domaine de l'azote, l'intérêt aurait été plus important si l'étude avait porté sur des différentes formes d'azote dans le fromage maigre séché lui-même. Il est probable en effet que l'état de l'azote est tel, au sein du fromage, que son assimilation pour l'organisme animal se trouve facilitée et sa valeur biologique augmentée. Aussi, la séparation et l'analyse des différentes formes de l'azote dans ce fromage ne manqueraient-elles pas d'intérêt.

En outre, la rétention plus ou moins grande dans le fromage des principes nutritifs du lait qui sert à sa fabrication, est largement tributaire du mode de fabrication; or, en nous reportant à la partie traitant de la technologie du fromage, nous constatons que le coefficient G atteint 35; cela vient du fait que nous avons arrêté plus tôt le processus naturel d'égouttage. En effet, au moment où nous avons amené les fromages pour les sécher, un échantillon du lot ne faisait que 23,55 % d'extrait sec total ce qui fait qu'en séchant les fromages à cet état, à l'opération d'égouttage, se trouve substituée celle de l'évaporation: ainsi, si pendant l'égouttage, le lactosérum s'écoule en emportant avec lui certains éléments solubles du caillé, au cours de l'évaporation en question, seule l'eau s'échappe et les éléments nutritifs, qui se seraient échappés avec le lactosérum, se trouvent ainsi "emprisonnés". Cette technique expliquerait peut être tous les résultats auxquels nous sommes parvenus (valeur biologique, acides aminés, calcium)

En outre, au cours d'une fabrication fromagère, la majeure partie du lactose du lait s'en va avec le lactosérum, mais il en reste toujours un peu dans le fromage; sous l'action des microorganismes des différentes espèces

de fromage, le lactose se transforme en acide lactique ; dans notre cas précis où nous évitons toute fermentation le peu de lactose qui reste ne subit pas de transformation notable. Or, il semble que le lactose, en plus de sa fonction énergétique, puisse avoir d'autres actions qui ne sont pas encore mises à jour ; on sait déjà (40) que le lactose agit favorablement sur l'assimilation et la rétention du calcium chez le rat, de plus il favorise une fermentation de type acide.

Il est probable aussi qu'on puisse lui attribuer dans certaines conditions particulières qui restent à définir, un rôle comparable à celui d'une vitamine et qu'il ait une action bénéfique sur la rétention azotée. Cependant, ce ne sont là que des hypothèses personnelles que nous formulons sans pour autant être en mesure d'apporter les justifications nécessaires pour les affirmer, car le lactose est matière à controverse chez un certain nombre de chercheurs.

CHAPITRE IV.

PROBLEMES ECONOMIQUES ET PERSPECTIVES D'AVENIR

I. Introduction

Dans une première partie de cet exposé, nous avons analysé dans son ensemble la situation alimentaire mondiale et les problèmes particuliers qui se posent dans les pays pauvres ; la carence protéique est un des éléments essentiels de cette situation et, à ce sujet, une commission d'enquête (68) chargée par le gouvernement français d'étudier cet épineux problème dans le cas particulier de l'Afrique Noire, fait remarquer que "les répercussions sanitaires, sociales et économiques de la carence protéique sont considérables. En particulier il n'est pas douteux qu'une amélioration sensible du ravitaillement en protéines conditionne, au premier chef, l'accroissement de la productivité de la main d'oeuvre africaine sans lequel on ne saurait envisager l'évolution technique et économique des territoires et pays de l'Afrique Noire".

Il se trouve que ces constatations sont valables pour l'ensemble des pays du Tiers Monde.

Or, la production de denrées alimentaires riches en protéines - surtout d'origine animale - se heurte, dans ces pays, il convient de le rappeler, à de sérieux problèmes d'ordre technique, économique, voire sociaux.

Ainsi selon la commission d'enquête dont nous avons parlé plus haut, il est des régions immenses d'Afrique qui resteront défavorables à l'élevage ; en outre, malgré tous les efforts qui pourront être déployés, le bétail africain ne deviendra jamais un bétail à vocation laitière, ne serait-ce qu'en raison du climat.

A ces réalités, s'ajoute aussi le fait que les protéines constituent l'élément le plus coûteux de la ration alimentaire. Le tableau XIV (50) nous donne quelques estimations du coût relatif de la protéine dans diverses denrées alimentaires, d'après les prix de gros sur les principaux marchés mondiaux.

A ces prix, il faut ajouter tous les frais de transport, de commission, etc... qui viennent s'y greffer en plus, pour se rendre compte du prix réel consenti sur les marchés des pays qui en ont besoin.

Il se trouve aussi que les populations des pays en voie de développement disposent le plus souvent d'un pouvoir d'achat tellement faible qu'il ne leur permet pas d'accéder à ces denrées riches en protéines dont ils ont pourtant besoin.

Devant cette situation, la nécessité de l'intervention des pays riches avec leur surplus alimentaire devient indispensable. Or l'un des problèmes les plus importants à l'époque actuelle est précisément le transfert de protéines animales en particulier de protéines de lait des régions excédentaires vers les régions déficitaires ; ce transfert de protéines se heurte à des difficultés ayant trait à la fois aux distances et aux températures, pour lesquelles, d'ailleurs, l'équipement des pays destinataires est généralement insuffisant.

TABLEAU XIV. Coût de la protéine contenue dans diverses denrées alimentaires (prix de gros sur les principaux marchés mondiaux).

	Protéine	Prix du produit	Prix de la protéine
	Pourcentage	Cents	F. par kg.
Lait écrémé en poudre	36	18,5	51
Poisson séché	37	30	85
Farine de poisson	80	40	50
Viande de Boeuf	11,5	39,3	342
Poulet	15,1	55	364
Oeufs	11	52	465
Pois chiches	20	12,4	62
Haricots secs	22	17,2	78
Farine de Blé	11,7	8	68
Farine de soja dégraissée	51	20	40
Isolat protéique, fevès de soja.	96,5	93,7	97
Noix de coco séchée	10,4	19,9	191

Tout naturellement, il a été proposé et réalisé l'envoi de protéines stabilisées tels que poudre de lait et fromages fondus par exemple mais ces produits se trouvent cependant, de par leurs caractéristiques mêmes, à des obstacles importants que nous rappelons ici :

- la poudre de lait oblige à des emballages relativement coûteux si l'on désire qu'elle soit protégée efficacement jusqu'au consommateur auquel on la destine, et en supposant aussi que celui-ci saura lui prolonger cette bonne conservation. Son utilisation suppose aussi que le consommateur dispose d'eau potable ce qui n'est pas toujours le cas.

- les fromages fondus doivent être aussi emballés en portions individuelles, si possible, et leur teneur en matière grasse les rend sensibles aux élévations de température.

C'est en raison de ces considérations que nous avons recherché la solution du fromage maigre stérilisé qui groupe les avantages des deux formules tout en évitant les inconvénients qu'elles présentent. Cette solution a aussi des avantages économiques car il faut bien dire que toute solution du problème de la faim doit présenter pour les pays concernés un intérêt économique certain sinon elle serait vouée à l'échec.

II. Quelques problèmes économiques

Certes ces deux formules partent d'un sous-produit de beurrerie : le lait écrémé dont on s'est aperçu, depuis fort longtemps, de sa haute valeur nutritive, tout en étant un produit bon marché.

Nous citerons, par exemple, l'étude faite par Bochet (10) qui nous apprend qu'à l'époque (fin du XIXe) le prix de l'albumine du lait écrémé était trois fois moins cher que celle de la viande ; à l'heure actuelle, nous constatons d'après le tableau XIV que la différence entre le kilo de protéines provenant du lait écrémé et celui provenant de la viande de boeuf est énorme : la viande de boeuf coûte environ 7 fois plus cher en considérant le prix de gros sur les marchés internationaux.

Dans une étude économique du CAPEL (70) il ressort que le prix du lait écrémé en France (dans le cas de la fabrication de l'emmenthal) est estimé à 0,133 F. au sein de la profession laitière ; comparé au prix de la viande, en considérant uniquement l'apport protidique, l'écart est encore plus grand que celui enregistré avec les prix de gros internationaux. Evidemment, les marchés intérieurs constituent des cas particuliers n'ayant toujours aucun rapport avec les prix pratiqués entre les pays.

Toujours est-il qu'au départ, le lait écrémé subit les mêmes charges avant d'être transformé en fromage ou en poudre.

Nous pouvons considérer également que la transformation du lait écrémé liquide en fromage telle que nous l'avons conduite, subit approximativement les mêmes charges dans les deux cas. Cependant il est probable que ces charges se trouvent un peu allégées dans le cas de la poudre de lait, par suite de la mécanisation très poussée enregistrée depuis quelques temps dans les procédés de fabrication. Mais cela n'altère pas pour autant les avantages économiques que présente la solution du fromage maigre séché. En effet, l'emballage, même individuel, et sous vide ne coûte pas aussi cher que celui utilisé pour la poudre de lait (boîte en fer blanc).

En outre, le petit format donné au fromage permet une distribution individuelle ; une unité de produit pour une unité de consommateur ; cela évite les gaspillages comme ceux auxquels on assiste dans le cas du lait en poudre et dont nous avons parlé plus haut.

De plus, d'après Veisseyre (69) il ressort que :

- 1 litre de lait écrémé renferme en moyenne 50 g. de lactose.
- 100 litres de lait maigre donnent approximativement 9,5 kg. à 9,7 kg. de poudre de lait.

Cela fait que, lorsqu'on transporte du lait écrémé en poudre, 50 % des quantités destinées aux pays pauvres sont constituées par du lactose. Or, le fret constitue une lourde charge dans les budgets des organismes spéciaux des Nations Unies chargés de mener la lutte contre la malnutrition à travers le monde.

Ainsi le F.I.S.E. (Fonds International de Secours à l'enfance) paie environ 2,5 Cents U.S. par kg. de lait.

transporté par voie maritime (54), ce qui représente de quoi acheter largement un autre litre de lait écrémé. Pour illustrer l'importance du transport dans ces opérations, signalons que sur 83.000 dollars U.S. accordés par le Fonds des Nations Unies pour l'Enfance, en vue de coordonner les efforts du Gouvernement Français et du F.I.S.E. dans un programme alimentaire en Afrique Noire de 1957 à 1959, on a consacré 76.000 dollars U.S. pour le transport de 3.800.000 livres de lait à raison de 2 Cents U.S. par livre (68).

A ce point de vue là, le fromage maigre séché présente un intérêt économique certain ; la majeure partie, sinon la totalité du lactose est éliminée avec le lactosérum ; cela dépend essentiellement de la façon dont se fait l'égouttage.

A quantité égale donc, on transportera plus de protéines avec le fromage maigre séché qu'avec la poudre de lait et dans des conditions économiques avantageuses.

Quant au fromage fondu, non seulement la matière grasse qu'il contient le rend sensible à des altérations dans les pays chauds, mais de plus, elle constitue la partie la plus onéreuse des produits laitiers ; à l'heure actuelle le prix de la matière grasse du lait est de 0,0085 F. (en France) ce qui ne va pas sans avoir une incidence sur le prix de revient du fromage fondu. Cela est d'autant plus important que les pays concernés sont, en général, producteurs de matière grasse d'origine végétale.

III. Conclusion.

Pour développer un tel projet il reste à rechercher par quels moyens peut être introduit le fromage maigre séché dans l'alimentation.

Est-ce par la consommation directe, en introduisant au cours de la fabrication un "assaisonnement" qui favoriserait sa diffusion au sein des populations ?

Ets-ce par l'introduction de ce fromage dans les préparations culinaires caractéristiques des pays déficients en protéines animales ?

Nous pensons bien, en effet, à la solution de voir ce fromage sec pilé avec les rations de mil, de couscous ou de riz ; il constituerait pour ces dernières, un apport efficace en calcium et en acides aminés indispensables faisant défaut dans ce genre de plats types de l'Afrique et de l'Extrême Orient.

Toujours est-il qu'un programme expérimental portant sur cet aspect du problème, mériterait de retenir l'attention car, à côté du lait en poudre où les protéines sont accompagnées de lactose, nous pouvons de cette manière introduire dans les repas un produit très riche en protéines.

CONCLUSIONS GENERALES

Sans vouloir sous-estimer les solutions qui ont été jusqu'à présent adoptées pour résoudre le problème de la malnutrition, notre objectif, tout le long de cet exposé, a consisté essentiellement à démontrer les avantages que présenterait une solution telle que celle du fromage maigre et sec.

Nous pensons, en effet, que dans un monde où la famine menace, toutes les solutions efficaces et économiquement possibles, seront les bienvenues. Or précisément, le projet que nous avons développé s'avère économiquement et techniquement réalisable ; les disponibilités en lait écrémé sont énormes à travers les pays à vocation laitière. Ainsi, Veisseyre (69) parle d'un chiffre de 120 millions d'hl. de lait écrémé dont dispose un pays comme la France ; cela représente 1.200.000 tonnes de matière sèche.

Il convient donc de valoriser cette richesse à travers le monde, dans les meilleures conditions.

On nous parle aussi de protéines provenant d'algues marines ou de microorganismes se développant en grand nombre, et puisant leur source d'énergie dans les hydrocarbures paraffiniques normaux des fractions de pétrole. A ce sujet, signalons que des recherches sont en cours dans un certain nombre de pays dont la France (71) où une unité semi-commerciale travaillant sur la fermentation pétrolière fonctionne à Lavera, dans le département des Bouches du Rhône ; il semble, d'après les résultats auxquels on est déjà parvenu, qu'on peut s'attendre à une proportion moyenne de 50 % de protéines dans le produit obtenu au cours de cette fermentation.

Certes ce projet ne manque pas d'intérêt, le pétrole se trouvant sur place dans les pays concernés.

Cependant, il convient de le souligner encore une fois, il ne suffit pas de "créer" un aliment riche en protéines, il faut en plus et surtout que les gens auxquels il est destiné soient disposés à l'introduire parmi leur alimentation traditionnelle.

Comme nous le voyons la tâche n'est pas facile et elle se trouve encore compliquée par d'autres considérations que résume si bien H.D. Kay (72) dans ces propos : "Ce n'est ni l'insuffisance de nos connaissances des sciences fondamentales, ni le manque de méthodes pratiques nécessaires à leur application dans les domaines de l'agriculture et de la diététique, qui constituent l'obstacle majeur à l'amélioration du niveau de l'alimentation dans la plupart des pays souffrant de malnutrition, cela malgré leur démographie excessive. C'est plutôt l'extrême lenteur de la diffusion de ces connaissances acquises, extrême lenteur causée par des obstacles politiques, sociologiques et physiologiques qu'aucune technique n'est encore arrivée à surmonter".

A N N E X EI. Préparation du mélange salin de Hubbel et Coll. (sans calcium). (proportion pour 6 kg.) (7)A. Préparation des petites quantités (à peser sur la balance de précision).

1. réduire en poudre dans un petit mortier et peser dans une capsule 0,960 g. d'iodure de potassium.

2. réduire en poudre dans un petit mortier et peser dans la même capsule 2,040 g. d'Alun de potassium.

3. peser dans une autre capsule :

- 4,200 g. de Sulfate de manganèse
- 12,00 g. de fluorure de Sodium.

4. réduire en poudre dans un petit mortier et peser dans une nouvelle capsule 10,800 g. de Sulfate de cuivre cristallisé.

après cette opération nous disposons de 3 capsules et 3 petits mortiers. Le contenu de chacune des capsules est mélangé à une certaine quantité du reste du mélange salin.

B. Préparation des grosses quantités.

1. réduire en poudre dans le broyeur et peser 192 g. de Sulfate de Magnésium.

2. ajouter dans une terrine et mélanger 300 g. de carbonate de magnésium.

3. réduire en poudre et peser 828 g. de ClNa et l'ajouter au mélange précédent. Mélanger l'ensemble.

4. réduire en poudre dans le broyeur (ou le mortier) et peser 1344 g. de Chlorure de potassium et l'ajouter au mélange précédent.

5. Peser 2544 g. de phosphate monopotassique ; l'ajouter au mélange précédent en le tamisant.

6. réduire en poudre et peser dans une capsule 324 g. de citrate ferrique ammoniacal - ne pas l'ajouter immédiatement au mélange précédent.

Remarque : on peut remplacer le citrate ferrique par le phosphate ferreux.

Après ces opérations :

- on reprend chacune des 3 petites fractions de sel (du début) avec une certaine quantité du gros mélange.
- puis on mélange ces 3 fractions obtenues dans un gros mortier et on l'ajoute au gros mélange.
- enfin on ajoute, en mélangeant le citrate ferrique en poudre.

Quand il s'agit du mélange salin complet avec Calcium on ajoute à 457 g. du mélange précédent (sans calcium) 543 g. de carbonate de calcium.

II. Calcul de l'erreur standard sur le CUD et la V.B (1)

Expression de l'erreur

$$\epsilon = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

x représente les différentes valeurs trouvées pour le C.U.D. ou la V.B.

$\bar{x}$ représente la valeur moyenne du C.U.D. ou de la V.B.

n représente le nombre de cas considérés.

Nous avons (1)

$$\sum (x - \bar{x})^2 = \sum x^2 - n \bar{x}^2$$

./.

(1) d'après le cours de statistiques donné par le Professeur Lefort à l'Institut National Agronomique de Paris.

Application1°) Valeur biologique (V.B.) : a) Poisson :

$$\bar{x}_p = 83,5 \Rightarrow \bar{x}_p^2 = 6972,5$$

$$n \bar{x}_p^2 = 62750,25$$

$$\sum x_p^2 = 63138,8$$

$$\sum p = \sqrt{\frac{263,55}{72}} \approx \pm 1,9$$

b) Fromage :

$$\bar{x}_f = 76,0 \Rightarrow \bar{x}_f^2 = 5776$$

$$n \bar{x}_f^2 = 40432$$

$$\sum x_f^2 = 40598,93$$

$$\sum f = \sqrt{\frac{166,93}{42}} \approx \pm 1,99 \approx \pm 2,0$$

c) Lait :

$$\bar{x}_l = 86,2 \Rightarrow \bar{x}_l^2 = 7430,44$$

$$n \bar{x}_l^2 = 59443,52$$

$$\sum x_l^2 = 59638,66$$

$$\sum l = \sqrt{\frac{195,14}{56}} \approx \pm 1,9$$

2°) Coefficient d'utilisation digestivea) Poisson :

$$\bar{x}_p = 76,7 \Rightarrow \bar{x}_p^2 = 5882,89$$

$$n \bar{x}_p^2 = 52946,01$$

$$\sum x_p^2 = 53012,23$$

$$\sum p = \sqrt{\frac{66,22}{72}} \approx \pm 0,96 \Rightarrow \pm 1$$

./.

b) Fromage :

$$\bar{x}_f = 82,9 \Rightarrow \bar{x}_f^2 = 6872,41$$

$$n\bar{x}_f^2 = 48106,87$$

$$\sum x_f^2 = 48263,21$$

$$s^2 = \sqrt{\frac{156,34}{42}} \approx \pm 1,9$$

c) Lait

$$\bar{x}_l = 82,7 \Rightarrow \bar{x}_l^2 = 6839,29$$

$$n\bar{x}_l^2 = 54714,32$$

$$\sum x_l^2 = 54919,72$$

$$s^2 = \sqrt{\frac{205,40}{56}} \approx \pm 1,9$$

BIBLIOGRAPHIE

1. Pouriau (A.F.) et Ammann (L.) - La laiterie "Maison Rustique" 7, 288, 335.
2. Adrian (J.) et Rerat (A.) - Méthode d'évaluation de la valeur nutritive des protéines - Cah. Tech. du Cent. Nat. de Coord. des études et rech. sur la nut. et l'alim. - CNRS Paris 1958.
3. Osborne (T.B.), Mendel (L.B.), Fery (E.L.) - J. Biol. Chem. 1919, 37, 223.
4. Jacquot (R.) et Armand (Y.) - Bull. Soc. Chim. Biol. 1942, 24, 313.
5. Trémolières (J.) et Pequignot (G.) - Ann. Nut. Alim. 1949, 3, 145.
6. Jacquot, Leroy, Simmonet, Courvoisier et Werber - Nutrition Anim. nouv. encyc. agric. Ed. J.B. Baillière Vol. I 1958.
7. Ces renseignements ont été recueillis au laboratoire de la qualité des aliments de l'homme. CNRZ, Jouy en Josas (France).
8. Mitchell (H.H.) - J. Animal Sci., 1942, 2, 263.
9. Bender (A.E.) et Miller (D.S.) - Biochem. J., 1953 53, VII.
10. Bochet (L.) - Manuel Pratique de l'indust. Lait. J. Fritsch. edit. Paris 1895, 260, 261.
11. Randoin (L.) et Causeret (J.) - L'alimentation et la vie - valeur nutritive des produits laitiers - Les fromages. Bull. Soci. Sci. d'Hyg. Alim. 1955.
12. Beadles (J.R.), Quisemberry (J.H.), Nakamura (F.I.) et Mitchell (H.H.) - Effect. of the ripening processus of cheese on the nutritive value of milk curd. - Jour. Agric. Res., 1933, 47, 947.

13. Univ. Of Reading - National Institute for Research in Dairying, Rep. for 1941, 1942, 1945.
14. Mitchell (H.H.) - Biological utilization of proteins in Sahyun, proteins and aminoacids in nutrition, New York Reinhold ed., 1948
15. Hubbel (R.B.), Mendel (L.B.) et Wakeman (A.J.) - Jour. Nut. 1937, 14, 273.
16. Henry (K.M.), Houston (J.), Kon (S.K.) et Osborne (L.W.) - Effect of commercial drying and evaporating on the nutritive properties of milk - Journal of Dairy Res., 1939, 10, 273.
17. Kon (S.K.) - Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, F.A.O. Rome 1959, 17, 36-78.
18. Causeret (J.) - Recherches sur l'utilisation physiologique du calcium au cours de la croissance chez le rat. Nouveaux aspects du rôle biologique de la vitamine D. Ann. de Zoot. I.N.R.A. 1954, 3, 271.
- 18 bis. Causeret (J.) - Thèse de Docteur-ès-sciences Université de Paris, 30 Mai 1953, p. 22 (même sujet que la référence 18).
19. Randoin (L.) et Causeret (J.) - Recherches préliminaires sur l'utilisation digestive et sur la valeur biologique des protides de diverses espèces de fromages - Ann. Techn. I.N.R.A. 1956, 4, 533-536.
20. Randoin (L.) et Causeret (J.) - La valeur nutritive des protides du lait peut-elle être affectée par le caillage et par l'élimination du lactosérum ? Ann. Technologie I.N.R.A. 1956, 4, 524.
21. Rand - Evaluation biologique des facteurs affectant la qualité des protéines des farines de poisson - Poultry Science, 1960, 45-53.
22. Lewis (H.B.) - Influence of small amounts of cystine on balance of N in dogs maintained on low proteins diet. Jour. Biol. Chem. 1917, 31, 363.

23. Osborne (T.B.) et Mendel (L.B.) - The comparative value of certain proteins in Growth and the problem of the protein minimum - Jour. Biol. Chem. 20, 351.
24. Causeret (J.), Hugo (D.), Mocquot (G) - Valeurs biologiques comparées des protéines du lait, du phosphocaseinate de calcium, du paracaseinate de calcium et de la caséine acide - communication faite à l'Acad. d'Agriculture de France - Extrait du P.V de la séance du 21 Janvier 1959, 1-2-3-4.
25. Causeret (J.), Hugo (D), Mocquot (G.) - Valeurs bio-
lo. comparées des protéines du lait, de la caséine
acide et de deux échantillons de caséine lactiques.
Communication faite à l'Acad. d'Agricul. de France
Extrait du P.V. de la séance du 12 oct. 1960, 785,
788.
26. Consden (R.), Gordon (A.H.) et Martin (A.J.P.) -
Qualitative analysis of protein - A partition chroma-
tography - Methode using paper - Biochem. J., 1944,
38, 224-232.
27. Peterson (M.H.) et Johnson (M.V.) - The estimation
of fatty acids of intermediate chain length by par-
tition chromatography - J. Biol. Chem. 1948, 174,
775-784.
28. Peterson (M.H.), Johnson (M.V.) et Price (W.V.) -
Liberation of fatty acids during making and ripening
of cheddar cheese. J. Dairy Sci. 1949, 32, 862-869.
29. Mabbitt (L.A.) - Quantitative estimation of the
aminoacids in cheddar cheese and their importance in
flavor. J. Dairy Res. 1955, 22, 224-231.
30. Adrian (J.) - Dosage des acides aminés par voie
microbiologique - Cahier A.E.C. n° 4, 1961, 121-133.
31. Adrian (J.) - Bulletin Soci. Chim. Biol. - 1955, 37
107.
32. Mc Mahan (J.R.) et Snell (E.E.) - J. Biol. Chem. -
1944, 152, 83.
33. Stokes (J.L.), Gunness (M.), Dwer (I.M.) et Caswell
(M.C.) - J. Biol. Chem. 1945, 160, 35.

34. Stell (B.F.), Sanberlih (H.E.), Reynolds (M.S.) et Baumann (C.A.) - J. Biol. Chem. 1949, 177, 533.
35. Ramachandran (M.) et Phansalkan (S.V.) - Ind. J. Med. Res. 1956, 44, 501.
36. Riesen (W.H.), Shweigert (B.S.) et Elvehjem (C.A.) J. Biol. Chem. 1946, 44, 347.
37. Barton Wright (E.C.) - Microbiological assay of the vitamin B complex and aminoacid, 1 vol. London 1952 Pitman Edit.
38. Miller (S.) et Ruttinger (U.) - Arch. Biochem. 1950, 27, 185.
39. Greene (R.D.) et Black (A.) - J. Biol. Chem. 1944, 155, 1.
40. Alais (Ch.) - Science du lait - principes des techniques laitières - Ed. SEP 1965, 2 - 492-511-512-532.570.
41. Guérault (A.M.) - L'industrie laitière - Organisation et gestion des entreprises - Edition SEP 1950, 2, 154 157.
42. Le Technicien du lait et de ses dérivés - La lyophilisation et les produits laitiers - Février 1965 n° 203, 7-14.
43. Frank (V.), Kosikowski et Mocquot (G.) - Progrès de la Technologie du fromage - FAO Rome 1958, 8.
44. Simon (A.) - Cheeses of the world - 160 et suivantes.
45. Dumont (R.) et Rosier (B.) - Nous allons à la famine Ed. du Seuil Paris 1966.
46. Cepède (M.) - Combattre la faim - Penurie entretenue ou expansion harmonieuse ? Revue Projet - Janvier 1967.
47. F.A.O. - Campagne mondiale contre la faim - Etude de base n° 11 - 3e enquête mondiale sur l'alimentation - Rome 1963, 21-41.

48. Holemans (K.), Lambrechts (A.), Martin (H.) et Hubin (C.) - Bilan d'azote, Ca et P chez la femme allaitante africaine - Compte-rendu du 4e Congrès Internat de Nutrition - Paris 26 Juillet-1er Août 1957, 13-14.
49. Frontalig - Alteration des teguments dans la carence protéique chez les enfants - Compte-rendu du 4e Congrès International de Nutrition - Paris 1957, 55-56.
50. F.A.O. - Situation mondiale de l'alimentation - Rome 1964, 114-153.
51. Dupin (H.), Toury (J.), Giorgi (R.), Wane (A.) et Cros (J.) - Etude des aliments de l'Ouest Africain envisagés sous l'angle de l'apport en protéines. Orana Dakar - Ann. de la Nut. et de l'Alim. 1963 - Volume XVII n° 3 CNRS.
52. Dupin (H.) - Problèmes alimentaires et nutritionnels en Afrique intertropicale - Cahiers de nutr. et de Diet. - Vol. 1 Fasc. 2 P.U.F. 1966, 65-73.
53. Bureau d'Etudes et de Participations Industrielles - (B.E.P.I.) - La farine alim. de poisson - Congrès Interna. des Industries Agricoles et Alim. Abidjan Dec. 1964.
54. Le Technicien du lait et de ses dérivés - L'industrie laitière dans les pays en voie de développement Avril 1964 - n° 194, 147.
55. Tremolières (J.), Serville (Y.), Jacquot (R.) - Manuel Elementaire d'Aliment. Humaine - les aliments Tome 2, E.S.F. - 1963, 175.
56. Beau (M.) - La caséine - Edit. Dunod Paris 1952, 15-16.
57. Revue des Industries laitières n° de mars 1965.
58. Poarch (M.A.E.) - Utilisation des caséines et caséinates pour les industries alimentaires en particulier - Séminaire International sur les caséines et caséinates Paris 31 Mai - 2 Juin 67.

59. Adrian (J.) - Le dosage microbiologique des vitamines du groupe B - CNRS Paris 1959, 57-71.
60. Williams (R.R.), Chedelin (V.H.) - Sci. 1942, 96-22.
61. Fédération Internationale de laiterie - Bulletin annuel Partie II - 1962, 140 - Journées d'études à Bastad (Suède) 4-6 Sept. 1961
62. Block (R.J.) et Weiss (K.W.) - Aminoacids Handbook spring field, III Thomas C.C. 1956.
63. Orr (M.L.) et Watt (B.K.) - Home econ. Res. Rep. n° 4 1957.
64. Aschaffenburg (R.), Drewry (J.) - New Procedure for the routine determination of the variations non casein proteins of milk National Institute for Research in dairying, Shinfield Reading England Received July 1958. Internat. Dairy Congress London 1959 - vol. 3, sect. 5 1631 - 1637.
65. Bosshardt (D.T.), Barnes (R.H.) - Journ. Nut. 1945 31, 13.
66. Swanson (P.P.), Stevenson (G.), Willman (W.), Brush (M.) - Fed. Proc. 1946, 5, 140.
57. Mitchell (H.H.) - J. Biol. Chem. 1924, 58, 873.
68. Conseil Supérieur de l'Agriculture - Le lait et les produits laitiers dans l'Alimentation des populations d'Afrique Noire - Associat. Franc. pour l'accroissement de la product. Paris 1957-58, 117-119.
69. Veisseyre - Techniques Laitières - Maison Rustique Paris 1966, 2, 235-481.
70. Revue Laitière Française - Etude du C.A.P.E.L. Octobre 67 n° 247, 541.
71. Champagnat (A.) - Les protéines de fermentation pétrolière, nouvelle ressource alimentaire - Impact volume XIV 1964 n° 2, 133-147.
72. Kay (H.D.) - Hunger can be adverted Londres 1961.

2ème T H E S E

RELATIONS ENTRE LA COMPOSITION
CHIMIQUE ET LA TEXTURE DES FROMAGES

S O M M A I R E

INTRODUCTION

- I. Composition de quelques produits laitiers.
- II. Rôle des constituants chimiques dans l'élaboration d'une texture de fromage.
 - A.- Action combinée du pH et des sels minéraux
 - B.- Action de la matière grasse.
 - C.- L'état de l'eau dans les fromages et son rôle dans l'élaboration d'une texture de fromage.
 - 1. L'eau dans les produits.
 - 2. Le mouvement de l'humidité dans les produits.
 - 21. Mouvement du liquide.
 - 22. Mouvement de la vapeur.
 - 3. L'étude de l'eau dans les fromages.

CONCLUSION

RELATIONS ENTRE LA COMPOSITION CHIMIQUE ET LA TEXTURE DES FROMAGES

Introduction

Plusieurs travaux ont été consacrés à l'étude physico-chimique des fromages, mais la texture à proprement parler n'a été étudiée qu'à travers certains défauts de la pâte auxquels on assiste parfois dans certaines fabrications fromagères.

D'une façon générale, la qualité finale d'un fromage est sous la dépendance de plusieurs facteurs :

- La matière première dont la qualité influe, tout au long de l'élaboration du fromage, sur ses caractéristiques.

- Les modes de préparation qui, d'après Alais (1) présentent une diversité dont il est difficile de fixer les limites ; s'il est vrai, en effet, que l'introduction du progrès technique au sein de la profession fromagère ait changé les conditions d'antan, il reste cependant quelques types de fromages bien attachés à telle ou telle région exclusivement. L'auteur ajoute que ces modes de préparation diversifient les fromages par l'influence qu'ils ont sur la structure et sur les fermentations :

- a) Les fromages ont une "charpente", le paracaséinate de calcium ; sa structure dépend du mode de coagulation, de la quantité d'eau retenue, de la proportion des matières grasses, du degré de protéolyse qui lui fait perdre sa rigidité etc...

- b) Les possibilités de fermentation de la caséine sont nombreuses ; leur réalisation dépend d'un ensemble de conditions physico-chimiques et des enzymes présents. L'aspect des fromages et leur saveur tiennent principalement à l'activité des microorganismes et aux fermentations que subissent la caséine, la matière grasse et aussi le lactose restant dans le caillé.

Tout cela fait que la texture d'un fromage constitue l'un des critères essentiels dans l'appréciation de sa qualité.

Entre autres facteurs qui influent sur la texture, il y a les éléments "chimiques" qui entrent dans la composition du fromage à savoir, l'eau, la matière grasse, les matières protéiques, les matières minérales, le pH, dont nous avons cherché pour certains d'entre eux, - à travers la présente étude bibliographique - à dégager le rôle qu'ils jouent pour imprimer au produit ses caractéristiques finales.

I. Composition de quelques produits laitiers :

Remarque préliminaire :

Comme le fait remarquer Koestler (2), l'étude de la nature physico-chimique du fromage demande une étude préalable (même sommaire) du système "lait" ainsi que de ses formes de transition jusqu'au fromage.

D'après cet auteur le lait est un système polydispersé, c'est-à-dire que les phases dispersées (graisse, caséine, albumine, lactose, sel, etc..) présentent des particules de différentes grosseurs. Le degré de dispersion (grosseur des particules isolées) des phases individuelles peut être d'une grande importance pour le caractère général du système. Plus le degré de division des substances est grand, plus ces substances seront en rapport intime avec le milieu dispersif : l'eau, et plus les forces qui s'exercent à la surface de séparation de particules isolées et de ce milieu dispersif seront grandes. Subissant l'influence de forces telles que forces de cohésion, d'adhésion, d'attraction moléculaire, charge électrique, il existe dans le système "lait", dans les conditions physico-chimiques normales, un équilibre qui peut être détruit par des actions mécaniques (processus du barattage), physiques (processus de l'écraimage), chimiques, enzymatiques (processus du caillage), microbiennes (fermentations de toutes sortes).

Ceci étant rappelé, il nous a semblé utile de donner ici la composition de quelques produits laitiers.

Ainsi le tableau I (3), nous donne une idée globale de l'évolution des constituants depuis le produit mère (le lait) jusqu'à certains produits finals (fromage, beurre)

Cons-Produits tituants	Lait	Lait écrémé	Ba- beurre	Sérum	Beurre	Fromages
Eau	87,5	90,5	90,5	93,0	16,0	30 à 75
Glucides	4,8	5,0	4,5	5,0	0,8	-
Lipides	3,5	0,1	0,4	0,2	82,4	0 à 30
Protides	3,3	3,6	3,4	0,9	0,6	20 à 30
Sels	0,9	0,8	0,7	0,7	0,1	2 à 5
Acide lact.	-	-	0,5	0,4	0,1	1 à 3
Matière sèche	12,5	9,5	9,5	7,2	84,0	25 à 70

Tableau I..- Composition de quelques produits laitiers
(en pour cent).

Le tableau II (1, 4) nous donne la composition minérale
de certaines catégories de fromages.

	Extrait sec	Ma- tière grasse	Ca	P	$\frac{Ca}{P}$
Fromage frais ("à la pie")	20	0	0,1 (0,5)	0,18 (0,90)	0,56
Pâte molle (camem- bert)	43	20,8 (47)	0,1 (0,23)	0,2 (0,46)	0,50
Pâte pressée (St Paulin)	47	22 (47)	0,61 (1,3)	0,44 (0,9)	1,38
Pâte cuite (Comté)	62	28 (45)	1,0 (1,6)	0,63 (1,0)	1,6
Teneur en % du fromage (...) en % de l'extrait sec					

Tableau II. Composition de quelques fromages.

Ainsi selon la proportion des constituants on va ren-
contrer autant de textures différentes qu'il y a de variétés
de fromages.

II. Le rôle des constituants chimiques dans l'élaboration de la texture de fromage.

Selon Lenoir (5), le processus de maturation des fromages est dominé par trois grands phénomènes biochimiques : la fermentation du lactose, l'hydrolyse de la matière grasse et la dégradation des protides. Ces phénomènes, et plus particulièrement le dernier, modifient l'aspect, la texture et la consistance de la pâte... Dans le cadre de la présente recherche bibliographique ayant pour but de dégager les relations entre la composition chimique et la texture du fromage, nous procédons comme suit :

- Nous envisageons d'abord l'action combinée du pH et des sels minéraux (particulièrement ClNa), puis nous étudions le rôle de la matière grasse ; enfin nous abordons tout particulièrement l'aspect relatif à l'eau dans les fromages à cause du rôle important qu'elle a aux divers stades de la fabrication fromagère.

A. L'action combinée du pH et des sels minéraux

Le teneur en sel naturel (1), dépend étroitement du mode de fabrication et en particulier de l'acidification au cours de l'égouttage. La proportion des minéraux est d'autant plus basse que l'acidité est plus développée. C'est le cas précisément des fromages à pâte molle dont le caillé a subi, en général, une fermentation lactique active qui a déminéralisé plus ou moins fortement la pâte ; celle-ci est friable ou molle ; elle est l'objet d'intenses activités microbiennes, ce qui rend ce genre de fromages très fragiles et doivent être consommés le plus tôt possible.

Il en est tout autrement des fromages à faible humidité dont le caillé retient le sel de calcium.

En outre le sel par le chlorure de sodium intervient (6) pour régler l'humidité du caillé. Lorsqu'il tapisse la surface de celui-ci, il absorbe en effet une certaine quantité d'eau provenant non seulement des couches superficielles, mais aussi de l'intérieur du fromage. Jointe à l'évaporation atmosphérique, cette absorption provoque, d'une part, la formation de la croûte, et d'autre part, un ralentissement de la caséolyse par suite de la déshydratation de la pâte. Dans le même ordre d'idée Jensen (7)

.../...

noté que le sel ne semble pas gêner l'effet de la chymosine (partie active de la présure) car des fromages contenant une proportion double de la normale, coulent complètement si le caillé est salé avant le moulage, mais pas, si les fromages sont salés dans la cuve. La croûte dure qui entoure le fromage quand on le sale en cuve, empêche le coulage.

Pour ce qui est du pH, il joue un rôle très important dans la maturation des fromages et par conséquent sur leur qualité finale. Le pH a un effet déterminant sur l'activité des enzymes protéolytiques (5 ; 7).

D'après les travaux effectués par Lenoir (5) sur ces Camemberts, le pH augmente assez rapidement après une dizaine de jours de leur fabrication, puis il tend à se stabiliser au voisinage de 7, au bout d'environ trois semaines. Au centre, la désacidification est plus lente, et après un mois, le pH atteint seulement 6. Ceci s'explique, essentiellement, par la présence en surface des champignons *Penicillium Caseicolum* et *Géotrichum Candidum* qui consomment l'acide Lactique (cf fig. I et tableau III).

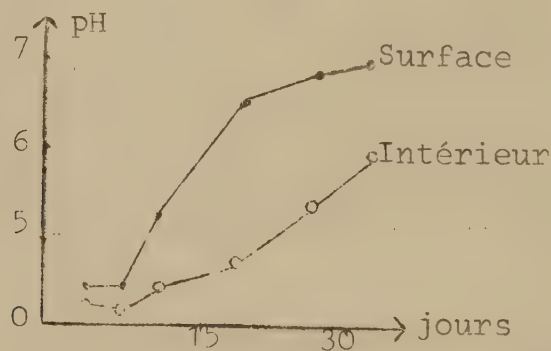


Fig. I. Evolution du pH en surface et à l'intérieur du Camembert (d'après Lenoir).

Pour sa part, Jensen (7) cite les recherches de Vitranen et Tarnanen (8) qui situent le pH optimum pour les enzymes protéolytiques des bactéries lactiques aux environs de 5,7-6. C'est pour cela qu'on obtiendra une maturation plus rapide des fromages si la maturation débute

à un pH plus élevé que 5,3. Mais si on produit ces conditions (en ajoutant de la craie ou du phosphate tricalcique au lait ou en rinçant le caillé) le pH monte très vite à 6 et il y a risque du développement des bactéries putréfiantes ce qui donnera un mauvais goût au fromage. Or c'est l'acidité qui retarde la putréfaction dans le fromage aussi bien que dans l'ensilage. Pour l'Emmenthal, Dorner (9) a trouvé que le pH de début optimum est de 5,15 - 5,25. Si au départ, le pH est 5, la maturation va très lentement et la surface verticale ne sera pas arrondie ; dans le fromage frais, ce fait provient d'une certaine proportion entre le salage et l'acidité. C'est ainsi, d'après Jensen (7), que la plasticité du caillé provient autant de la teneur en sel que de la concentration en ions H^+ et il est intéressant de noter que l'addition de sel, utilisée depuis les temps les plus reculés pour le pain (10) et pour le fromage, n'est pas seulement une addition destinée à améliorer la saveur mais qu'elle produit également une amélioration de la pâte.

Si la concentration en ions H^+ est encore diminuée à 4,7 par exemple, la chymosine produit encore de l'effet mais les enzymes des bactéries lactiques cessent d'agir pratiquement et les fromages ne peuvent plus par conséquent mûrir uniformément dans toute leur masse, ce qui est la caractéristique des fromages durs ; la maturation doit, par conséquent, débiter à la surface et pénétrer graduellement à l'intérieur, par le moyen de microorganismes se développant à la surface du fromage.

Pour des fromages tels que le St Paulin, il peut arriver, après une durée normale d'affinage, qu'ils présentent (3) à la coupe deux zones de caillé différentes. Sur une épaisseur sous croûte de 1 cm. à 1,5 cm., la pâte est jaune, coulante affinée ; le reste du fromage présente un noyau dur, blanc non solubilisé et de texture crayeuse. Ce fromage s'affine de l'extérieur de la croûte vers l'intérieur sous l'action de ferments de croûtage.

Il y a 2 causes principales pour ce défaut de texture :

1°) L'action lactique est trop importante en cuve sous presse. L'acidité en excès déminéralise le caillé pendant l'égouttage et le peu de calcium restant ne peut neutraliser la pâte acide.

2°) Ce défaut est favorisé par un égouttage insuffisant du grain en chaudière (grains gros et spongieux) - Une pression trop faible (les 1ères heures de pressage) ainsi qu'un refroidissement trop brutal du caillé à la mise sous presse accentuent ce défaut. Ceci explique l'apparition de ce défaut sur des fabrications ne présentant pas une acidité trop élevée.

Ces différents exemples nous montrent l'importance des facteurs pH, sel, eau dont les interactions déterminent, tout au long de l'évolution du fromage, la qualité du produit qui prendra le chemin du marché.

Le tableau III nous donne une idée sur l'évolution de ces trois facteurs, au cours de la maturation du Camembert d'après Lenoir (5).

B. L'action de la matière grasse dans l'élaboration de la texture :

Tout au long des processus de fabrication, la matière grasse peut avoir une influence non négligeable sur la texture des fromages.

Ainsi, d'après Veisseyre (6), la matière grasse joue un rôle important dans le comportement du caillé. Sa présence conditionne à la fois l'onctuosité de la pâte et sa teneur en eau dont dépend le développement des germes pendant l'affinage.

A ce sujet, Mocquot et coll. (11) ont étudié le rôle que peut jouer la matière grasse dans la conservation des fromages ; ils ont travaillé sur un même type de fromages, les uns étaient gras, les autres maigres et ils sont arrivés aux conclusions suivantes :

1°) Dans un premier travail sur la composition des fromages maigres et gras du type Gruyère, ils constatèrent que parmi les trois facteurs connus d'ordinaire pour être les plus importants, pour la conservation du fromage à savoir :

- le pH de la pâte
- la teneur en sel (ClNa)
- la teneur en eau

deux sont à peu près semblables, si l'on considère des fromages de même âge, le pH et la teneur en sel, tandis que

Tableau III. - Teneur en eau, en chlorure de Sodium et pH des échantillons de Camembert (Lenoir)

	JOURS	3 - 5	6 - 8	10 - 13	17 - 21	24-27	30-34
Eau (g %)	(1er échantillon						
	(2e	55,0	56,6	56,2-54,8	52,2	47,7	-
	(3e	56,7	55,2	-	53,5	53,5	52,9
	(4e	54,7	-	56,0-55,1	50,5-50,1	48,8	50,8
	(Moy.	-	54,6-54,2	56,0	52,1	50,4	45,2
		55,47	55,15	55,62	51,68	50,10	49,63
	(1er	58,8	57,8	53,4-53,9	50,6	48,1	-
	(2e	58,9	56,1	-	50,6	52,3	51,7
	(3e	59,0	-	55,6-55,6	52,6-53,0	49,8	53,8
	(4e	-	61,0-58,0	56,4	53,0	51,7	48,6
ClNa (g %)	(Moy.	58,90	58,22	54,98	52,00	50,47	51,36
	(1er	1,9	2,1	2,4 -2,3	2,1	2,2	-
	(2e	2,2	2,1	-	2,5	2,7	2,6
	(3e	2,1	-	2,1-2,0	2,2-2,2	2,5	2,25
	(4e	-	2,0	2,1	2,3	2,7	2,8
	(Moy.	2,06	2,06	2,18	2,26	2,52	2,55
	(1er	1,6	2,1	2,3-2,5	2,4	2,7	-
	(2e	1,9	2,1	-	2,9	2,9	3,2
	(3e	2,1	-	2,4-2,3	2,6-2,6	3,0	2,7
	(4e	-	2,1	2,3	2,7	3,0	3,4
pH	(Moy.	1,86	2,10	2,36	2,64	2,90	3,10
	(1er	4,5	4,4	5,3-5,1	6,2	6,9	-
	(2e	4,4	4,9	-	6,9	7,0	7,0
	(3e	-	-	-	-	-	-
	(4e	-	4,2-4,4	5,5	6,3	6,6	7,0
	(Moy.	4,45	4,47	5,30	6,47	6,83	7,00
	(1er	4,4	4,3	4,6-4,7	4,7	5,6	-
	(2e	4,2	4,2	-	4,8	5,4	6,1
	(3e	-	-	-	-	-	-
	(4e	-	4,2-4,2	4,3	4,7	5,3	5,9
	(Moy.	4,30	4,22	4,53	4,73	5,43	6,00

le 3e, la teneur en eau, est nettement différent : pour un même type de fromage et un même procédé de fabrication, la teneur en eau, exprimée en pour cent de la matière fraîche, est plus élevée dans les maigres que dans les gras.

Les auteurs font remarquer que cette différence de teneur en eau ne peut être effacée par une simple modification technique du procédé de fabrication ; il faudrait augmenter considérablement les moyens d'action du fromager (ce qui perdrait tout intérêt pratique) si l'on voulait obtenir un gruyère maigre contenant comme le gras 63 à 65 % de substance sèche ; de plus, ce produit aurait à peu près la dureté du bois, au lieu d'avoir, à l'instar du fromage gras correspondant, une consistance assez voisine de celle du beurre. Ceci revient à dire que le problème posé par sa consommation serait encore plus ardu que celui de sa fabrication.

Si la teneur en eau est exprimée, non plus pour cent de la substance fraîche, mais pour cent de la substance azotée, les valeurs trouvées par les auteurs sont voisines pour les gras et les maigres : autrement dit, ce sont les substances azotées qui fixent l'eau et non pas les graisses.

2°) Dans un deuxième travail destiné à déterminer les conditions de développement des microbes putréfiants dans les fromages maigres ou gras, ils constatèrent à propos des fromages fondus que :

a) Pour une même catégorie de fromages, les maigres par exemple, le développement des putréfiants est d'autant plus rapide que la proportion d'eau est plus grande.

b) Pour une même valeur du rapport $\frac{\text{eau}}{\text{substance azotée}}$ le développement des putréfiants est plus rapide dans les maigres que dans les gras.

La graisse exerce donc une action bactériostatique sur les microbes putréfiants et l'adjonction de graisse au fromage augmente par conséquent les qualités de conservation de celui-ci.

Dans une autre étude, Keilling et coll. (12) attirent l'attention sur le rôle de l'état physique de la matière grasse et ses rapports avec un certain nombre d'accidents de fromages à pâte cuite.

A propos de l'Emmenthal à 2 couleurs, Keilling et coll. notent que les deux parties du fromage, sont d'une élasticité différente : le centre jaune est très élastique, la périphérie blanche est cassante d'où l'hypothèse que la fraction lipidique expulsée est à la fois porteuse de pigment et plastifiante, et l'indication vraisemblable, que, dans certains cas, il peut y avoir départ du facteur plastifiant sans qu'il y ait variation de coloration : on est alors devant le fromage à 2 pâtes.

Il ressort clairement de ces études qu'entre les différents facteurs :

- pH du fromage
- matières minérales (particulièrement ClNa)
- matière grasse.

Connus pour avoir une action déterminante sur la texture d'un fromage, il y a des interactions dans lesquelles intervient fréquemment le facteur eau qu'il importe maintenant d'étudier pour savoir sous quelles formes elle existe dans les fromages.

C). L'état de l'eau dans les fromages et son rôle dans l'élaboration d'une texture.

Comme chacun sait, la question de l'eau dans les produits pose des problèmes d'une importance capitale et pour ne citer que les produits alimentaires, elle est la clé d'un certain nombre de problèmes tels que la conservation et la transformation des produits agricoles, deux phénomènes à caractère économique qui agissent efficacement sur l'éternel problème de l'offre et de la demande en matière de produits agricoles et par là même sur les prix.

Vu l'importance de cette question, il nous a semblé utile d'aborder l'étude de l'eau d'abord dans son aspect général avant de voir ce qu'il en est pour les fromages.

1.- L'eau dans les produits :

D'après Hamm (13), certains produits contiennent une quantité considérable d'eau. La viande par exemple, contient 75 % d'eau et l'eau contenue dans les fruits peut même atteindre 85 %. Cette eau est évidemment immobilisée en quelque part puisque si le produit est coupé, l'eau ne s'écoule pas au dehors. En outre il est possible d'extraire une partie de l'eau totale d'un produit par des moyens appropriés (séchage par exemple) c'est ce que l'on désigne sous le terme général d'eau "libre" (free water) ; en revanche, il est une partie de l'humidité qui reste intimement liée à la structure du produit quel que soit le procédé d'extraction employé ; c'est ce que l'on appelle "l'eau liée" ou "bound water" dans la littérature anglo-saxonne.

D'après Bayliss (14), les trois principaux critères sur lesquels on se base pour parler d'une telle "eau liée" sont :

- a) une partie de l'eau totale présente dans le système, ne peut pas être cristallisée comme des cristaux de glace même à de très basses températures.
- b) une certaine partie de l'eau ne peut pas dissoudre des substances qui sont réellement solubles dans "l'eau libre".
- c) une certaine quantité d'eau est présente dans les cristaux ou les particules du colloïde pur qui ont été séparés mécaniquement du liquide mère et "séchés" à l'air.

Il reste cependant que la notion "d'eau libre" et "d'eau liée" ne peut être une notion absolue, d'après l'auteur, on s'achemine graduellement à l'intérieur du produit, d'une "eau liée" (au sens très strict) dans les micelles colloïdales faisant partie de la structure moléculaire, vers une "eau liée" (dans un sens moins strict) des lyosphères pour arriver à l'eau complètement "libre".

Toujours d'après Bayliss, les déterminations faites par différentes méthodes donnent l'existence de 0,2 à 0,5 g. environ d'eau liée associée à chaque g. de protéines, la quantité exacte étant différente selon qu'il s'agisse de telle ou telle protéine.

Traitant de la capacité de rétention de l'eau par la viande, Hamm (13) note que la quantité d'eau liée (4 à 5 % de l'eau totale) est fortement influencée par la structure et la charge des protéines du muscle ; quant à la quantité d'eau "libre" immobilisée dans le tissu, elle est fortement influencée par la stéréochimie du tissu musculaire.

Ainsi le resserrement du réseau de protéines diminue l'eau immobilisée et augmente la quantité d'eau facilement exprimable, le relâchement de la structure de la protéine produit l'effet opposé (15).

De tels changements structuraux, poursuit l'auteur, peuvent être causés par l'attraction ou la répulsion entre les groupes chargés de la protéine ou par l'union ou le relâchement des liaisons entre les chaînes de peptides. Ces interactions moléculaires se trouvent sous l'action de certains facteurs tels que le pH, la présence de certains ions etc comme le montrent les graphiques (13) :

% eau immobilisée
dans le muscle

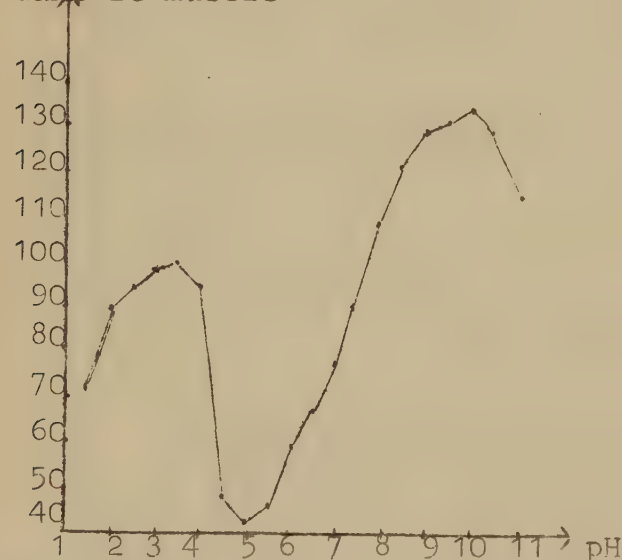


Fig. II : Influence du pH sur la capacité de teneur en eau du muscle de boeuf (homogène)

% eau immobilisée
dans le muscle

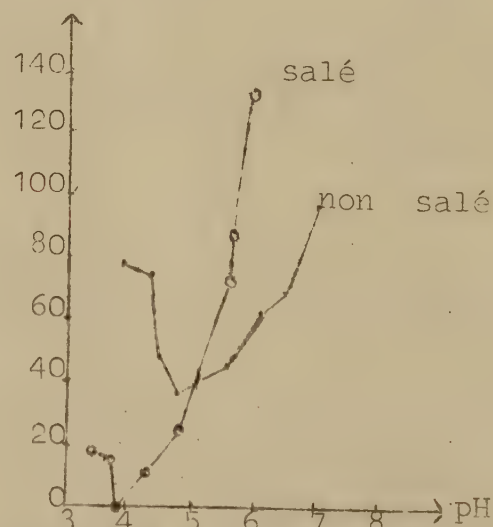
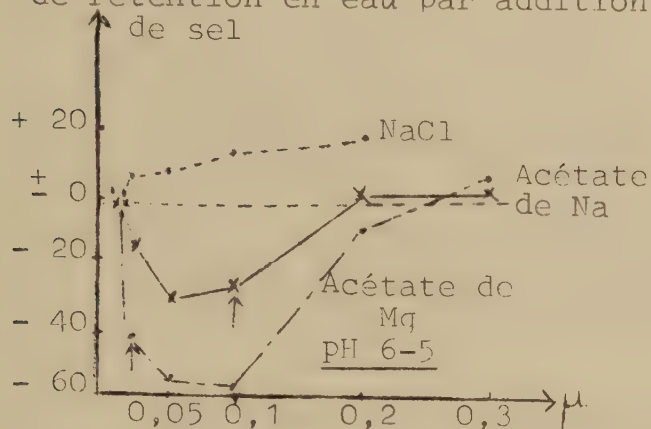


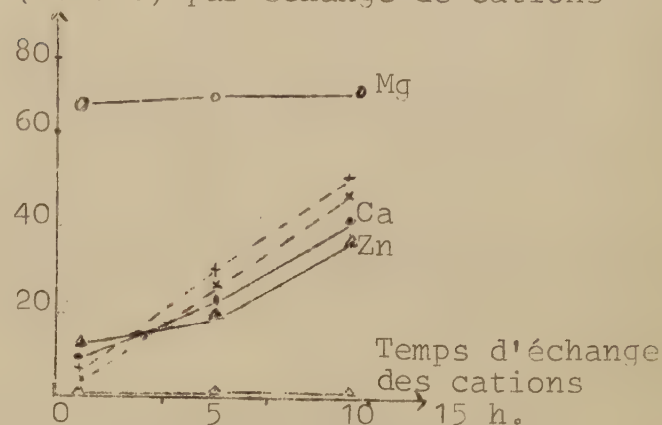
Fig. III : Influence du chlorure de sodium sur la courbe hydratation-pH du muscle de boeuf.

% variation de la capacité de rétention en eau par addition de sel



* les flèches indiquent la concentration de Mg^{++} et des ions alcalins ($Na^+ + K^+$) dans le sarco-plasme.

% accroissement de l'hydratation (C.R.E.) par échange de cations



* mesure de l'hydratation :
+ méthode centrifuge
x papier filtre

Fig. IV: Influence des sels de magnésium et de sodium sur la capacité de teneur en eau des myofibrilles (60 % d'eau ajoutée)

Fig. V: Echange de cations dans un muscle de boeuf (homogène) et son effet sur l'hydratation du muscle.

% Variation de l'hydratation du muscle par addition de sel.

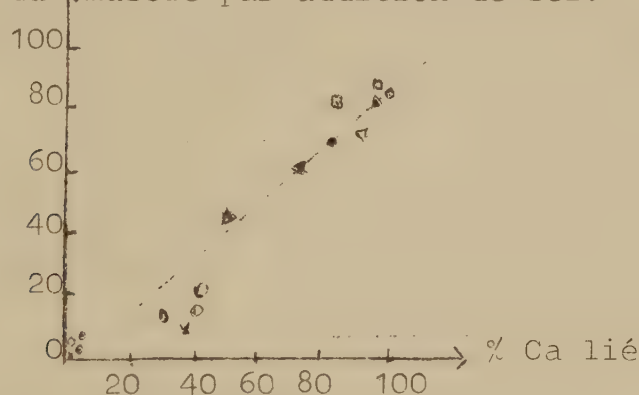


Fig. VI: Corrélation entre l'influence des différents anions sur la capacité de teneur en eau du muscle de boeuf (homogène) et sur la dissociation du calcium (dans une solution de $CaCl_2$) 1,5 % de sel ajouté, pH 6-4.

Les actions de cations et anions sont largement mises à profit dans la pratique industrielle : on utilise par exemple le citrate et les polyphosphates pour augmenter la capacité de rétention de l'eau des saucisses type Francfort ou pour réduire le départ de l'eau pendant la mise en boîte du jambon ; comme c'est le cas pour les fromages ou le pain, la pratique du salage de la viande pendant la transformation et l'emmagasiner est très répandue : le sel intervient pour conserver à la viande une bonne texture.

Ceci étant dit, il est intéressant maintenant d'étudier le côté dynamique de la question à savoir :

2.- Le mouvement de l'humidité dans les produits :

Remarque préliminaire : l'ambiance dans laquelle vit un produit joue un rôle important dans les modifications qui peuvent atteindre ce dernier. En particulier l'humidité d'un produit se trouve influencée, entre autres facteurs, par les phénomènes de sorption dont Kneule (16) donne les définitions suivantes :

- si un produit humide de nature hygroscopique se trouve en contact avec une vapeur, il fixe celle-ci jusqu'à ce qu'il se produise un état d'équilibre. Ce phénomène est connu sous le nom d'adsorption.

- d'autre part lorsque de tels produits sont plongés dans une atmosphère sèche, ils cèdent de la vapeur jusqu'à ce que la pression partielle résultant de cette cession soit devenue égale à la tension de vapeur qu'ils renferment. Ce phénomène est la désorption.

Dans les modifications de l'humidité des produits il y a lieu de distinguer strictement (16) :

21. Le mouvement du liquide sous l'influence de forces capillaires ou de forces superficielles.

22. Le mouvement de la vapeur dans les pores remplis de gaz, causé par des différences de tension partielle des vapeurs.

89,2 = une molécule hexahydrate est dissoute dans
1000 - (18 x 6) ou 892 d'eau; en partant d'un
1/10e de mole et 100 g. d'eau dans l'échantil-
lon nous avons donc 10 fois moins soit 89,2

Ainsi ils ont pu déterminer par différence la propor-
tion d'eau liée dans un certain nombre de constituants de
lait (tableaux IV, V et VI).

Echan- tillons	Age de l'échan. t=40°F	Ma- tière sèche	pH	Viscosité (centi- Poises)	Acide %	Al- cool N°	eau liée en %	eau liée en g/g de matière sèche
Lait (	4 h.	12,10	6,56	2,352	0,165	8,3	2,88	0,238
entier (	24 h.	12,10	"	2,382	0,170	8,4	2,92	0,241
Lait (	4 h.	8,85	6,57	2,088	0,175	8,4	2,58	0,291
écrémé (	24 h.	8,85	"	2,088	0,180	8,5	2,58	0,291
Sérum à (	4 h.	6,51	6,51	1,794	1,05	-	0,89	0,136
pH 6,58 (	24 h.	6,51	6,52	1,794	1,05	-	0,97	0,149
Sérum à (	4 h.	6,40	4,76	1,705	0,245	-	0,44	0,068
pH 4,76 (	24 h.	6,40	4,75	1,705	0,250	-	0,44	0,068
Restant (	4 h.	5,86	6,23	1,617	0,095	-	0,12	0,020
de M.S. (	24 h.	5,86	6,25	1,617	0,10	-	0,12	0,020

Tableau IV. - L'eau liée dans les constituants du lait
(coagulation par la présure).

Constituants	% dans le lait	eau liée en g/g de substance	% d'eau liée
Caséine	2,34	0,688	55,14
Albumine	0,65	1,30	29,11
M.G + Beurre	3,25	0,104	11,65
Restant de M.S	5,86	0,020	4,10

Tableau V. - L'eau liée des constituants du lait exprimée
en g. et en pourcentage (coag. présure).

Echan- tillons	Age du lait t=40° F	Ma- tière sèche	pH	Viscosité (centi- poises)	Acide %	Al- cool N°	eau liée en %	eau liée en g/g de M.S.
Lait (	4 h.	13,72	6,59	2,382	0,195	8,6	2,60	0,189
entier (	24 h.	13,72	6,58	2,441	0,195	8,7	2,91	0,212
Lait (	4 h.	9,12	6,60	2,058	0,205	8,7	2,29	0,251
écrémé (	24 h.	9,12	6,60	2,117	0,205	8,7	2,37	0,259
Sérum à (	4 h.	6,72	6,58	1,798	0,18	-	0,90	0,133
pH 6,5 (	24 h.	6,72	6,58	1,798	0,18	-	0,94	0,139
Sérum (	4 h.	6,64	4,76	1,718	0,46	-	0,39	0,058
pH 4,7 (	24 h.	6,64	4,76	1,718	0,46	-	0,39	0,058
Restant (	4 h.	6,07	6,39	1,624	0,17	-	0,08	0,013
de M.S (	24 h.	6,07	6,40	1,624	0,17	-	0,08	0,013

Tableau VI.- L'eau liée des constituants du lait (coagulation par l'acide).

Allemann (18) pour sa part opéra sur une émulsion de fromage broyé dans de l'eau distillée et détermina l'eau liée en utilisant lui aussi la méthode cryoscopique et la formule de Newton et Gortner.

Il a montré que dans les fromages à pâte dure, les parties voisines de la croûte qui sont en général plus sèches, paraissent fixer moins d'eau d'hydratation. En outre la presque totalité de l'eau d'hydratation se trouve retenue dans les substances azotées la matière grasse ne retenant qu'une faible partie.

Plus tard Mocquot (19) a entrepris une étude intéressante sur l'eau liée du fromage type Gruyère.

Stade de la fabrication auquel le prélèvement a été effectué	Teneur en H ₂ O du produit	Teneur en graisse % du produit frais	Teneur en N ₂ % du produit frais	Lactose dans 100 g. de substance fraîche	Acide lact. dans 100 g. de subst. fraîche	Lactose dans 100 g. d'eau du produit	Acide lact. dans 100 g. d'eau du produit	Eau liée % de la substance sèche du caillé
FROMAGE Grés								
<u>Fin du chauffage</u> 54° C								
Sérum Caillé	93,1 60,5	0,5 18,2	6,4 21,3	5,120 2,622	- -	5,500 4,406	- -	30,5
<u>Fin du brassage</u>								
Sérum Caillé	92,8 46,5	0,6 24,0	6,6 29,5	5,025 1,720	- -	5,410 3,700	- -	27,5
<u>Sortie de presse</u>								
Sérum Caillé	- 37,3	- 28,2	- 34,5	- -	- 1,228	- -	- 3,290	- 23,2
FROMAGE Maigre								
<u>Fin du chauffage</u> 48° C								
Sérum Caillé	93,1 60,5	- 0,3	6,5 27,6	4,92 2,290	- -	5,265 3,690	- -	49,0
<u>Sortie de presse</u>								
Caillé	51,7	0,4	47,9		1,621		3,138	43,5

Tableau VII (d'après Mocquot)

Dans un travail préliminaire, on a dosé le lactose dans le caillé et le sérum puis l'acide lactique dans le fromage sortant de presse, s'inspirant ainsi du travail de Mac Dowall et Dolby (20).

L'eau liée a été calculée d'après la formule proposée par ces auteurs soit :

$$\text{eau liée} = \frac{L_s - L_c}{L_s} \times \frac{H}{100-H} \quad \text{dans laquelle}$$

L_s = concentration du lactose dans l'eau du Sérum
 L_c = " " " " " du Caillé
 H = teneur en eau du caillé.

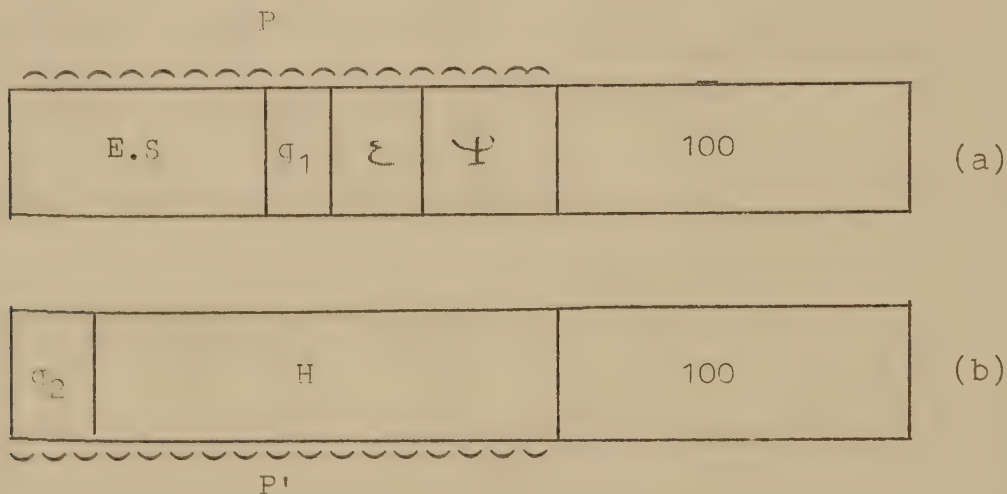
Les résultats se trouvent rassemblés dans le tableau VII.

Dans une deuxième série d'expériences, Mocquot s'est intéressé à la détermination de l'eau d'hydratation dans les caillés de fromagerie. En effet, comme le fait remarquer l'auteur, dans le domaine de l'eau liée, c'est bien au paracaséinate de calcium (le principal constituant des fromages) qu'il faut prêter l'attention puisque, comme l'ont montré les travaux de Pyenson et Dahle d'une part, ceux d'Allemann d'autre part, la presque totalité de l'eau d'hydratation se trouve retenue dans les matières azotées. C'est dans cet esprit que Mocquot a entrepris cette 2e série d'expériences dont les résultats se trouvent rassemblés dans les tableaux VII et IX.

Ce travail consistait - sommairement - en une préparation d'un caillé de fromagerie (type Gruyère), suivi ensuite d'un lavage afin d'éliminer tout le lactose et les éléments solubles. Ensuite un échantillon du caillé est mis en contact avec une solution servant d'indicateur - suivent encore d'autres opérations (dosages effectués sur des échantillons du caillé et sur la solution indicatrice, etc...) qui sont différentes selon que la solution indicatrice est volatile ou non ; le calcul des résultats diffère également :

a) Cas des substances indicatrices non volatiles.

Nous avons là le caillé (a) d'une part, et la solution indicatrice (b) d'autre part, et que l'auteur a schématisés comme suit :



E.S. = substance sèche provenant du caillé dans la prise
 g_1 = le sucre ou le glycérol dans la prise d'essai sur le caillé

l'eau totale se décompose en :

ϵ = eau liée (à la substance sèche du caillé)
 Ψ = eau libre - Enfin il y a les 100 g. d'eau qu'on ajoute et qui diluent le sucre dissous dans l'eau libre.

g_2 = sucre contenu dans la prise d'essai de la solution
 H = eau totale de la prise

$$g_2 + H = P' \quad (\text{pesé à la balance})$$

soit g la quantité de sucre/g de dilution :

nous avons dans (a)

$$\text{eau libre} + 100 \text{ g. d'eau} + \text{sucre} = \Psi + 100 + g_1 \text{ du caillé.}$$

soit g' la quantité de sucre/g. de dilution nous avons dans (b) :

$$\text{eau de sérum} + \text{sucre} + 100 \text{ g. d'eau} = P' + 100$$

g et g' représentent les résultats tels qu'ils sont fournis par l'analyse.

soit C_1 la concentration du sucre dans l'eau libre du caillé avant la dilution dans les 100 g. d'eau.

$$C_1 = \frac{g_1}{P + g_1} \quad (1) \quad \text{soit}$$

$$P = \frac{g_1 (1 - C_1)}{C_1} \quad (2) \quad \text{et après l'addition des 100 g. d'eau on a :}$$

$$g_1 = g (100 + P + g_1) \quad (3) \quad \text{d'où}$$

$$g_1 = \frac{g (100 + P)}{1 - g} \quad (4) \quad \text{- en remplaçant } g_1 \text{ de (4)}$$

dans (2) nous avons

$$P = \frac{100 g (1 - C_1)}{C_1 - g} \quad (5)$$

le schéma (b) indique la valeur de $C_1 = \frac{g_2}{P'} = g \frac{(100 + P')}{P'} \quad (6)$

en revenant dans (5) on aura P en fonction de g , g' et P' :

$$P = \frac{100 g (P' (1 - g') - 100 g')}{g' (100 + P') - g P'}$$

le dosage de l'humidité donne l'eau totale H de la prise d'où l'eau liée ξ

$$\xi = H - P$$

qu'on peut exprimer en fonction de la substance sèche et de la substance azotée.

b) Cas des substances indicatrices volatiles

Dans ce cas, l'auteur a calculé la quantité d'eau liée selon la formule de Nicloux :

$$K = \frac{100 (1 - P)}{S} - 1$$

K = quantité d'eau liée pour 1 g de substance sèche.

$$f = \frac{Q_a}{Q_e} \quad \left\{ \begin{array}{l} Q_a = \text{teneur en alcool ou acétone du caillé} \\ Q_e = \text{" " " " " liquide} \end{array} \right.$$

S = pourcentage de la substance sèche du caillé.

Quand le sérum contient lui aussi une certaine quantité de matière sèche on a d'après Nicloux :

$$K = \frac{100 (1-f)}{S_1 - f S_2} \quad \begin{array}{l} S_1 = \text{substance sèche du caillé} \\ S_2 = \text{" " " " " sérum} \end{array}$$

Ces formules nous permettent donc d'exploiter les résultats des tableaux VIII et IX d'après lesquels la teneur en eau liée des échantillons varie suivant la substance utilisée comme indicateur. :

Les sucres en C₆ (glucose, levulose, galactose) donnent des chiffres voisins les uns des autres ; de même avec les 3 sucres en C₁₂ (saccharose, maltose, lactose), on obtient des valeurs de même ordre mais nettement supérieures aux précédentes. Enfin, avec le raffinose le résultat est plus élevé que pour tous les autres. Avec l'alcool et l'acétone, les chiffres trouvés sont plus bas ; pour l'alcool éthylique la proportion d'eau liée est très faible ou nulle (tableau IX).

L'auteur a ensuite cherché à savoir l'influence que pourraient avoir certains facteurs mis en jeu dans la pratique fromagère (température, pression, salage) sur la teneur en eau liée des fromages et a obtenu les résultats résumés dans le tableau X.

Substances Indica- trices	g en mg	g' en mg	P' en g	P en g	H en g	P en g	Σ en g	ESD en g.	%	Valeurs moyennes	
										% de la substance sèche	% de la substance azotée
Lactose	5,036	5,100	10,197	21,245	13,720	10,410	3,310	6,925	47,8		
	4,876	4,370	7,091	13,000	9,073	7,44	1,633	3,400	48,2		
	4,557	4,780	7,220	13,000	8,750	7,085	1,665	3,736	44,7	47,6	52,5
	4,085	5,07	10,192	14,000	9,540	7,590	1,95	4,019	48,6		
	5,612	5,552	15,238	20,000	16,220	14,70	1,52	3,135	48,5		
Saccharose	4,81	4,77	7,746	15,309	9,654	7,300	2,354	5,135	45,9	44,1	49,0
	4,935	5,899	09,828	15,517	9,782	7,570	2,212	5,205	42,5		
Maltose	3,585	3,230	8,101	16,642	10,932	8,660	2,272	5,3205	42,7	40,5	44,9
	3,735	3,670	9,231	16,952	11,124	9,000	2,124	5,421	39,2		
Galactose	3,703	3,330	7,557	15,200	9,680	8,080	1,60	5,119	31,3		
	4,115	3,295	7,481	17,351	11,050	9,090	1,96	5,851	33,5		
	4,900	4,412	15,216	28,019	19,119	16,620	2,499	8,325	30,0	31,3	35,1
	4,786	4,412	15,216	27,219	18,644	18,180	2,464	8,116	30,4		
	4,484	4,176	8,351	14,704	9,590	8,515	1,075	4,628	23,2		
Levulose	4,972	4,502	9,046	16,295	10,612	9,530	1,080	5,140	21,1		
	4,501	3,637	15,143	28,000	20,540	18,900	1,640	6,922	23,7	22,7	25,1
	3,890	4,320	20,117	30,000	20,250	17,650	2,600	9,292	28,0		
	7,200	6,300	15,331	25,000	18,440	17,000	1,440	5,714	25,2		
	5,555	4,383	7,139	16,000	10,051	8,61	1,441	5,346	27	27,0	29,8
Glucose	4,150	4,005	6,669	12,000	7,526	6,696	0,830	3,032	27,4		
	4,840	4,900	6,908	13,000	7,622	6,312	1,310	4,763	27,5		
	3,282	3,418	30,020	44,120	31,120	28,100	3,020	12,580	24,0	25,3	27,8
	3,212	3,418	30,020	44,120	30,64	27,550	3,290	12,381	26,6		
	4,400	4,490	25,228	40	27,48	24,150	3,33	11,972	27,8	25,0	27,7
Aldehyde glycérique	4,41	4,49	25,228	40	27,234	24,150	3,084	12,218	25,2		
	3,937	3,595	24,910	40	30,095	27,800	2,295	9,397	24,4		
	3,937	3,595	24,910	40	29,946	27,800	2,146	9,551	22,5		
	1,360	1,293	10,012	16	11,509	10,410	1,099	4,323	25,4	25,4	28,1
	4,510	5,05	25,220	40,000	28,310	21,400	6,910	11,42	62		
Raffinose	4,350	4,800	25,220	40,000	28,310	21,820	6,490	11,161	58,2		
	4,230	4,790	25,203	40,000	28,000	21,45	6,55	11,483	57,1	59,1	65,7

Substances indica- trices	Durée de contact entre le caillé et la solution acétonique	Qa	Qe	P	S ₁	PS ₂	H ₂ O liée
Acétone	30 mn	0,3365	0,3696	0,9125	9,90	0,32	17,5
	2 h.	0,1682	0,2061	0,816	15,40	0,02	19,7
	24 h.	1,129	1,369	0,826	16,10	0,426	11,5
	5 jours	1,128	1,406	0,802	16,72	0,544	22,5
Alcool Ethylique	* 15 h.	1,424	1,931	0,737	30,5	5,18	4,0
	* 15 h.	1,406	1,924	0,731	32,21	5,29	0,0
	15 h.	1,143	1,719	0,667	33,78	0,2535	0,5
	15 h.	1,250	1,719	0,728	28,64	0,276	3,0

* Ces essais ont porté sur des grains de caillé non lavés en suspension dans le lactosérum d'où la teneur en substance sèche plus élevée du sérum et la valeur qui en découle pour le produit PS₂

Tableau IX (d'après Mocquot)

Nature de l'essai	Substance sèche % de la substance humide (sucre déduit)		Eau liée % de la sub- stance sèche (sucre déduit)	
	Glucose	Lactose	Glucose	Lactose
<u>Pression</u>				
faible	29,9	27,9	28,8	46,6
forte	36,1	33,0	24,6	45,3
<u>Chauffage</u>				
A 35° C	29,8	-	32,3	-
A 50° C	38,5	-	28	-
<u>Salage</u>				
Nul	30,0	34,7	27,5	45,6
A 20 %	32,55	35,3	19,5	30,5

Tableau X (d'après Mocquot)

Le chauffage et la pression diminuent surtout l'eau libre et affectent moins l'eau liée, tandis que le sel agit plus particulièrement sur l'eau liée ; la diminution qui affecte à peu près également les sucres en C_6 et les sucres en C_{12} représente 30 % par rapport aux taux primitifs d'eau liée. Par contre l'eau totale n'a pas beaucoup varié.

D'après l'auteur, il est intéressant de noter le changement des propriétés physiques du caillé plongé dans la saumure salée. Ce dernier perd, en effet, son élasticité et durcit beaucoup. Ces phénomènes sont bien connus des fromagers qui utilisent le sel pour obtenir l'égouttage des fromages à pâtes persillées (type Roquefort) ou du Port-Salut.

Dans la discussion générale sur les résultats trouvés, l'auteur note qu'il ne peut être question de définir une seule "eau liée" pour un produit, il convient encore de préciser qu'il s'agit de l' "eau liée" mise en évidence au moyen d'une substance indicatrice déterminée.

Sachant que les différents sucres "pénètrent" chacun à sa manière dans l'eau du caillé, l'auteur se pose la question de savoir ce qui se produirait si le lactose du lait venait à être remplacé par du glucose dans une fabrication de Gruyère.

En pareil cas, dit l'auteur, le taux du sucre dans l'eau du fromage et par suite dans le fromage lui-même serait augmenté, puisque le glucose pénètre dans une fraction de l'eau du caillé qui reste "imperméable" au lactose. Le taux d'acide lactique provenant de la fermentation de ce sucre par les bactéries lactiques, subirait un accroissement analogue. Or on connaît l'importance du taux d'acide lactique dans les fromages et les conséquences d'une augmentation ou d'une diminution éventuelle de ce dernier (21).

Dans le fromage de Gruyère, une augmentation du taux lactique conduit au défaut désigné par les praticiens sous le nom de Lainure. La pâte se fend au lieu de produire une ouverture normale. Il semble aussi qu'un excès d'activité des Lactobacilles (22) rend la pâte blanche et dure, d'où s'écoule un liquide salé (on dit que les yeux du fromage pleurent le sel).

On peut donc prévoir qu'un lait dans lequel le lactose serait remplacé par du glucose donnerait, après transformation une forte proportion de fromages laités, les conditions de fabrication demeurent par ailleurs inchangées.

L'auteur donne un schéma de la composition d'un fromage normal (Gruyère) et celle du même fromage dans lequel on suppose le lactose du lait remplacé par du glucose :

100 g. de fromage contiennent :

Fig. A

30	28	13,5	24,5	4	Extrait sec non azoté dont 1,25 g d'acide lactique
<u>Graisse</u>	<u>subst.</u> <u>azotées</u>	<u>H₂O</u> <u>liée</u>	<u>eau libre</u>		

100 g. de fromage contiennent

Fig. B

30	28	7,55	30,45	4	Extrait sec non azoté dont 1,68 g. d'acide lactique
<u>Graisse</u>	<u>subst.</u> <u>azotée</u>	<u>H₂O</u> <u>liée</u>	<u>H₂O libre</u>		

Fig. A = fromage normal (Gruyère) : le sucre du lait est du lactose

Fig. B = fromage dans lequel on suppose le lactose du lait remplacé par du glucose.

CONCLUSION.

Tout au long de cette étude bibliographique, nous avons vu que la texture d'un fromage, - élément très important dans l'appréciation de la qualité du produit fini - est sous la dépendance d'un grand nombre de facteurs ayant trait aussi bien à la qualité des produits employés (le lait particulièrement) qu'au "doigté" que doit avoir le fromager pour mener à bien les opérations nécessaires tout au long de la fabrication.

En outre la maturation des fromages est essentiellement sous l'influence d'actions microbiennes déterminées, et l'on conçoit aisément le rôle important des facteurs physico-chimiques qui les conditionnent.

Nous avons vu le rôle particulièrement important du Ph et du sel, celui de la matière grasse et nous avons essayé d'éclaircir celui de l'eau grâce aux travaux parus à ce sujet.

Cependant, si l'on a pu définir l'action propre de certains de ces facteurs chimiques, nombre d'entre eux relèvent d'hypothèses non encore élucidées. C'est le cas de l'eau dans les fromages. Certains auteurs supposent l'existence d'une eau liée et d'une eau libre mais comme nous l'avons vu, pour le même produit, la proportion d'eau liée varie suivant la technique employée. D'autres (14) se contentent de considérer l'eau totale sans distinction aucune entre la partie liée et la partie libre du fait même que la frontière entre les deux n'est pas encore définie.

Il reste cependant que toutes ces actions (celles du pH, du sel, de l'eau, de la matière grasse...) se retrouvent et interfèrent pour imprimer au produit ses caractéristiques finales.

BIBLIOGRAPHIE

1. Alais (Ch) - Science du lait et principes des techniques laitières- Edition "Sep" Paris 1961 - p. 390 et suivantes.
2. Koestler (G) - Considérations physico-chimiques sur le fromage - Le lait 12, 1932, 289-300, 413-431.
3. Cours de fromagerie à l'ENIL de Mamirolle - France
4. Guittonneau (G) et Chevalier (R) - Le calcium et le phosphore dans les fromages - Ann. Falsifications et Fraudes - 1935 n° 316, 198.
5. Lenoir (J) - Sur la dégradation des protéides au cours de la maturation du Camembert - note présentée par Jacquet à l'Acad. d'Agriculture de France - C.R 1962, 160-169.
6. Veisseyre (R) - Techniques laitières - Maison Rustique Paris 1966, 356 et suivantes.
7. Orla - Jensen - Théories de la maturation des fromages durs - Le lait 1940, 2-15.
8. Vitranen - Enzymes protéolytiques des bactéries lactiques - Congrès Inter. de laiterie - Copenhague 1931.
9. Dorner - Du rapport entre la concentration en ions H⁺ du fromage jeune et ses qualités ultérieures - 1937 - Livre jubilaire du Dr. Burri.
10. Orla - Jensen (Mme) - Importance du sel pour la cuisson du pain (Communication du laboratoire des farines) - Nordisk Handelsblad for Kemisk industrie 1922.
11. Mocquot (S), Savoie (S), Claveau (J) - Le rôle de la matière grasse dans la conservation des fromages - C.R. de l'Acad. d'Agriculture de France 4 - 1947,- 163-167.
12. Keilling (J), Camus (A), Laniesse (P), Blanchet (M), Theumann (J), Lempereur (F), Barbut (A), Burdin (J), Vayssière (B) - Rôle de l'état physique de la matière grasse dans les caractéristiques des fromages - Indus. Laitière - 1963, 197, 63-64.

13. Hamm (R) - Water Imbibing Power of Foods - Recent Advances in Food Science - 3 - p. 218-229, 1963 - J.M. Leitch and D.N. Rhodes - Butterworth.
14. Bayliss (L.E.) - Bound water and free water - Principles of general physiology - Vol. one - the physico-chemical background - Ed. 1959 - 257-258.
15. Hamm (R) - Advances Food Chem. 1960, 10, 356.
16. Kneule (F) - Le séchage - Eyrolles Paris 1964, p. 31 et suivantes.
17. Pyenson (H) et Dahle (C.D) - Bound water and its relation to some dairy products - J. of Dairy Science vol. XXI April 1938 - n° 4 p. 169, 407 et 601.
18. Allemann (O) - Annuaire Agricole de la Suisse 1940 - 9e fascicule - p. 936 du 23 Juillet 45.
19. Mocquot (G) - Etude de l'eau liée des fromages - Le lait 1947 - p. 576 et suivantes.
20. Mac Dowall et Dolby
Jour. of Dairy Research - Vol. VIII n° 2, p. 156
21. Dolby (R.M), Mac Dowall (H.F) et Mac Dowall (KKR)
Jour. Of Dairy Research - vol. VIII n° 1, 0-74 1937.
22. Brenet (G) - Les gruyères - Cours professé à l'ENIL Mamirolle - France p. 66.

